

监测微环境理化性质和活性硫物质的萘酰亚胺衍生物
光学探针研究进展夏鹏鹏^a 陈江太^a 施高凡^a 张蒙蒙^b尧婉辰^a 林祥德^{*,b} 曾冬冬^{*,b}(^a 上海理工大学健康科学与工程学院 上海 200093)(^b 上海健康医学院 上海 201318)

摘要 萘酰亚胺衍生物具有出色的光物理特性, 已被设计为光学探针并应用于各种生物学场景. 作为生物学中重要的微环境和活性硫物质在生物系统中发挥着重要作用, 有必要对其进行高效的检测. 综述了萘酰亚胺衍生物探针对于微环境和活性硫物质的检测. 从 pH 值、粘度、极性和温度四个方面对微环境的检测进行阐述, 讨论了探针的设计方案和各类荧光性能的比较. 从检测策略角度把机制分为亲核取代策略、亲核加成策略、取代基的还原策略、重金属置换策略和其他策略, 对活性硫物质进行论述, 并对这些探针的各类荧光性能进行汇总与比较. 最后, 描述了这类探针的设计和实际应用中的不足, 并对这一领域未来前景进行了展望.

关键词 萘酰亚胺衍生物; 微环境; 活性硫物质; 光学探针; 光物理

Research Progress of Naphthalimide Derivatives Optical Probes for
Monitoring Physical and Chemical Properties of Microenvironment
and Active Sulfur SubstancesXia, Pengpeng^a Chen, Jiangtai^a Shi, Gaofan^a Zhang, Mengmeng^bYao, Wanchen^a Lin, Xiangde^{*,b} Zeng, Dongdong^{*,b}(^a School of Health Science and Engineering, University of Shanghai for Science and Technology, Shanghai 200093)(^b Shanghai University of Medicine and Health Sciences, Shanghai 201318)

Abstract Naphthalimide derivatives have been designed as optical probes and applied in various biological scenarios due to their excellent photophysical properties. As an important microenvironment and active sulfur substance in biology plays an important role in biological system, it is necessary to detect it efficiently. The detection of naphthalimide derivatives for microenvironment and active sulfur substances is reviewed. The detection of microenvironment is described from four aspects of pH value, viscosity, polarity and temperature, and the design scheme of the probe and the comparison of all kinds of fluorescence properties are discussed. From the point of view of detection strategy, the mechanism is divided into nucleophilic substitution strategy, nucleophilic addition strategy, substituent reduction strategy, heavy metal replacement strategy and other strategies, and the fluorescence properties of these probes are summarized and compared. Finally, some shortcomings in the design and practical application of this kind of probe are described, and the future prospect of this field is prospected.

Keywords naphthalimide derivatives, microenvironment, active sulfur substances, optical probes, photophysics

细胞内影响微环境的理化性质的因素十分复杂, 诸如粘度、极性、温度、pH 值等(图 1). 这些参数对于生物活细胞内的各种生化过程或者物理刺激方面的事件

至关重要^[1-4]. 例如, 细胞内的粘度是影响线粒体内代谢物质扩散的重要因素. 极性被定义为细胞内接触溶剂的整体溶剂化能力. 细胞内的温度是许多生化过程的发生

* Corresponding authors. E-mail: linxd@sumhs.edu.cn; zengdd@sumhs.edu.cn

Received May 6, 2022; revised June 13, 2022; published online July 5, 2022.

Project supported by the Natural Science Foundation of Shanghai (No.19ZR1474300).

上海市自然科学基金(No.19ZR1474300)资助项目.

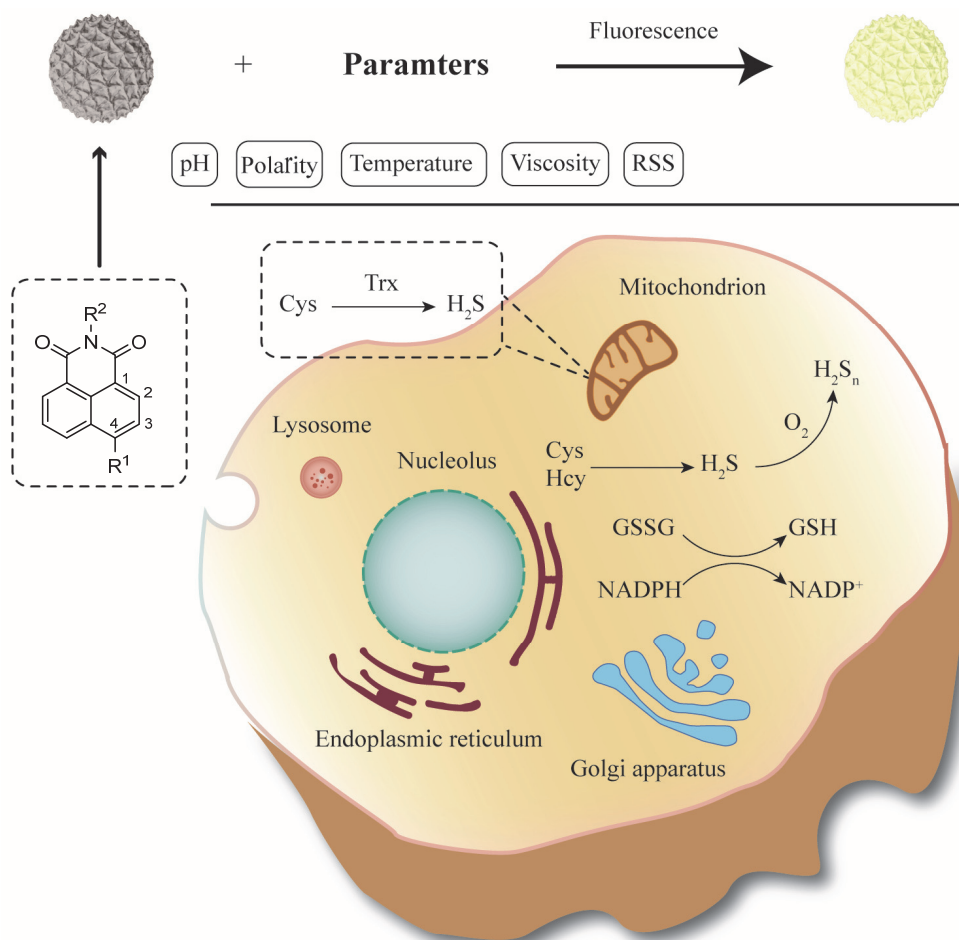


图1 萘酰亚胺衍生物探针的示意图以及微环境的几种亚细胞器和活性硫物质的代谢过程

Figure 1 Schematic diagram of naphthalimide derivative probes and several subcellular organelles and metabolic processes of and reactive sulfur species in the microenvironment

和生物分子的活性的决定因素。此外, pH 值被定义为氢离子浓度的负对数, 异常 pH 值被认为是肿瘤微环境的生物标志物。活性硫物质(RSS)定义为包括生理环境中含硫化合物, 以及与这些含硫物质相关的酶与蛋白质(图 1)。这些硫物质在细胞内各种生化事件发挥着重要作用。例如, 在低浓度下, H_2S 发挥有益的心血管作用。谷胱甘肽(GSH)含有一个容易氧化和脱氢的活性硫醇基团, 通常可以通过还原型辅酶 II(NADPH)还原氧化型的谷胱甘肽(GSSG)而获得, 是主要的生理性自由基清除剂之一^[5-6]。由于这些具有生物学功能的微环境和活性硫物质在细胞中发挥着基础的作用, 因此实现这些生理参数的高效检测十分必要。

近年来, 许多结构的衍生物已被开发设计为各种光学探针, 并用于一些待测物的检测, 例如氟化硼二吡咯(BODIPY)、花青、半花青、喹啉和萘酰亚胺等^[7-8]。其中萘酰亚胺及其衍生物(NA)具有出色的光物理特性, 例如, 大斯托克斯位移、长波长区(红/红外)发射、高双光子吸收截面、出色的内部电荷转移(ICT)效率等。NA

已被广泛应用于作为生物学应用的荧光传感器。此外, 萘酰亚胺易于引入各种修饰结构改变光物理特性。例如, 在 4 号 C 位引入电子供体取代基形成推挽型结构, 产生分子内电荷转移(ICT)效应, 可以使最长波长的吸收峰和荧光峰红移至更长波长, 这些富电子受体的例子有氯苯氧基等。也可以在萘酰亚胺 N 原子上添加吸电子基团如氰基、硝基等^[9-10]。它们针对特定细胞器的定位可以通过下述策略实施, 针对溶酶体靶向的吗啉基团和哌嗪基团、靶向线粒体的三苯基膦基团(TPP)、靶向肿瘤细胞的适体等。目前为止, 关于 NA 检测各种待测物的机制包括光致电子转移(PeT)、ICT、分子内扭转电荷转移(TICT)、荧光共振能量转移(FRET)和聚集诱导发光(AIE)等。这些机制为探针设计提供了方法。例如, 大多数 NA 的荧光探针都是将萘酰亚胺部分与其他识别性受体结合起来构建的。这些识别性受体识别目标检测物, 通过上述的机制而改变探针的荧光性能。另一方面, NA 的关键合成步骤分为两步(图 2): 第一步是 4 号位取代的 1,8-萘二甲酸酐与胺类化合物发生的酰胺化反应。第

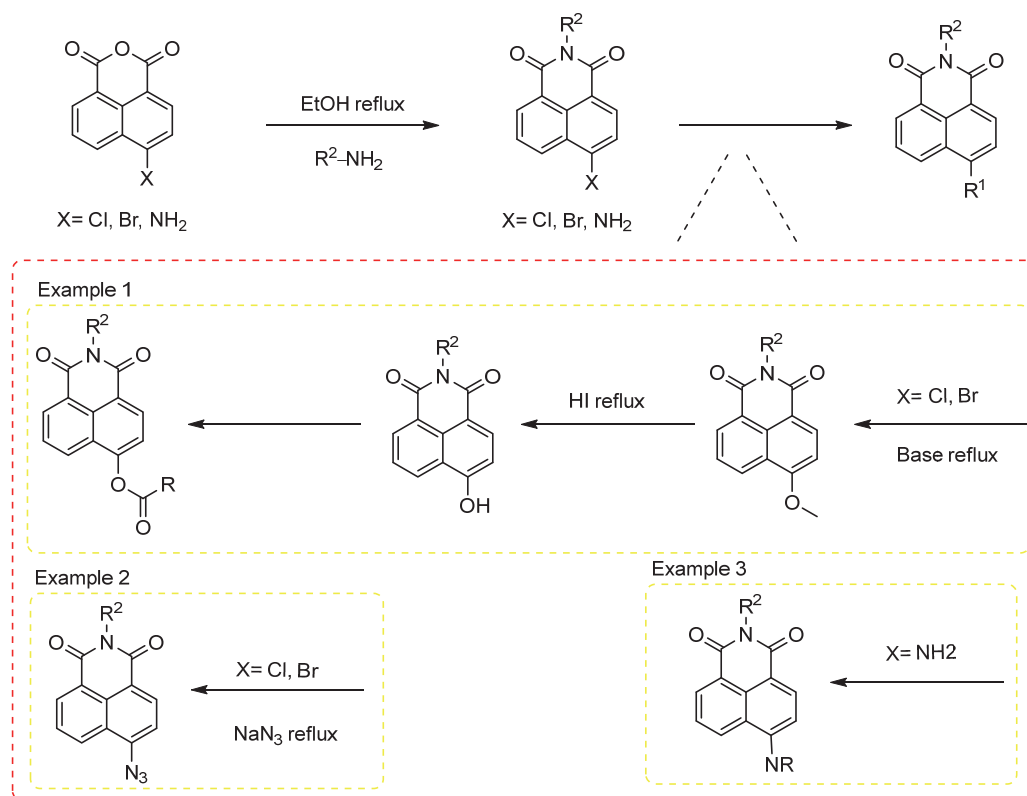


图2 萘酰亚胺衍生物的合成方法
Figure 2 Synthetic method of naphthalimide derivatives

第二步是4号位溴氯基团或者氨基发生的特征性反应,例如在溴氯基团的羟基化之后产生酯基化合物或者叠氮化后产生叠氮化合物,氨基的取代反应等.上述这些反应简单、时间短、产率高^[11-17].

尽管有许多关于NA用于生物成像的评论,但是很少有从细胞所处的微环境的理化参数和生物硫物质的监测这一角度对NA探针进行综述^[18].本文首先从细胞的微环境的理化性质4个因素(pH值、粘度、极性和温度)入手,讨论了NA荧光探针的设计方案以及对各类荧光性能参数汇总,并将设计的探针应用于生物中对微环境的理化性质监测.随后探讨了微环境中活性硫物质的检测策略,将这些策略分类为亲核取代策略、亲核加成策略、取代基的还原策略、重金属置换策略和其他策略等.并描述了这些活性硫物质检测的各类荧光特性差异与联系以及在生物学中的应用.最后,对这一领域所面临的挑战和未来前景进行了展望.

1 微环境理化性质探针

1.1 pH探针

通常,质子被用于参与各种生命活动.细胞通常暴露于具有不同酸度水平的生理环境,这些pH水平只有在一定适当的范围才会对正常的生物学功能起到维持

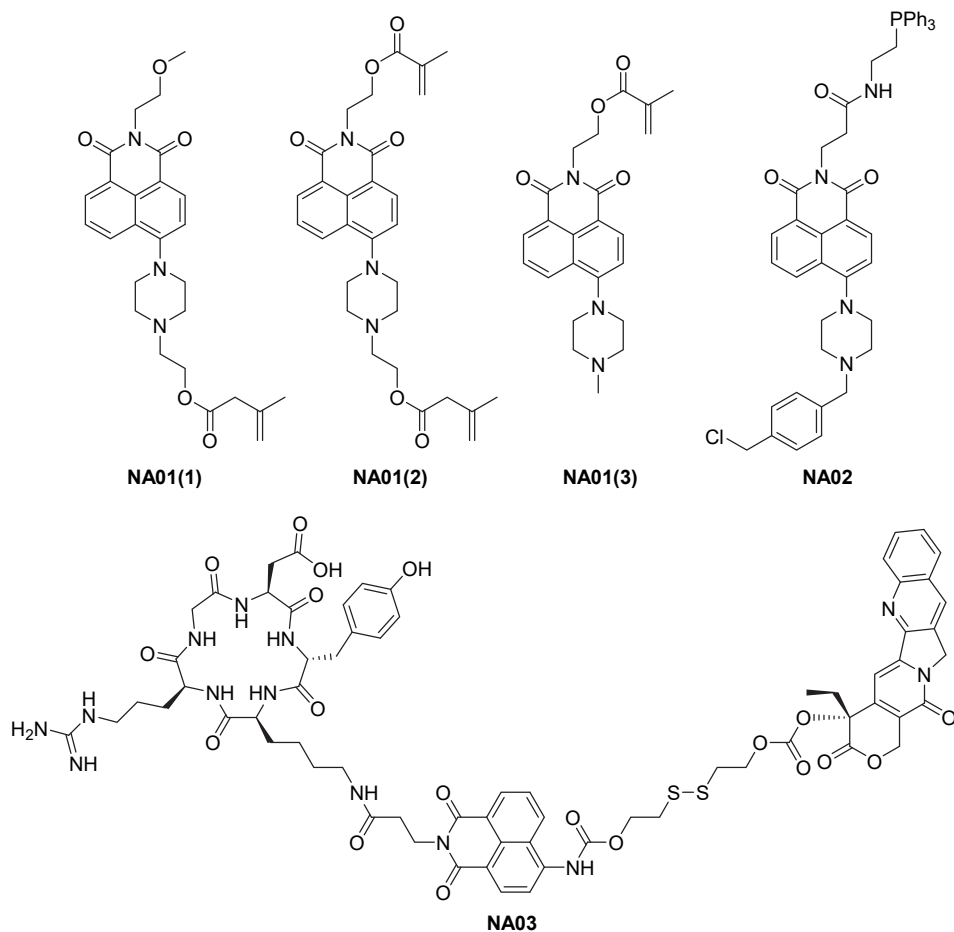
或者促进作用.例如,细胞溶质pH维持在7左右,溶酶体中的pH值为4.5~5.0,在高尔基体中的pH值通常呈微酸性,而线粒体的pH水平为弱碱性($pH \approx 8.0$)^[19].此外,不同的生理过程涉及的生化反应也需要不同的pH范围以及由此产生的pH水平变化^[7].因此,监测细胞pH水平以及pH值的动态变化可以对于区分病理状态和研究常见的生理过程提供见解.近年来,研究人员针对微环境pH的检测构建了许多基于NA的光学探针,它们的检测特性如表1所示.

Tian与其合作者^[20]报道了基于PeT的3款相似的探针NA01(1)、NA01(2)、NA01(3)用于靶向溶酶体的pH.其中NA01(1)探针具有两种成分:一个荧光团(萘酰亚胺部分)和一个pH传感基团(哌嗪基部分),在4.5~7.5的pH范围内具有Boltzmann拟合的动态响应.该探针在酸性pH值下显示出强烈的绿色荧光.在酸化的条件下,哌嗪基上的胺基部分发生了质子化过程,这阻止了从胺基的孤电子对到受体萘酰亚胺荧光团的PeT发生,从而导致源自荧光团氨基-1,8-萘酰亚胺的荧光恢复.该探针用于监测溶酶体在细胞中的空间分布.其他两种探针与NA01(1)类似,不再赘述,其各类荧光性能参数总结于表格中.此外,在NA02^[21]、NA03^[22]中发现了相同的PeT机制.但是这些探针含有不同的靶向机制,

表 1 基于萘酰亚胺衍生物检测微环境 pH 的性能比较

Table 1 Performance comparison of microenvironment pH detection based on naphthalimide derivatives

Probe	$\lambda_{\text{ex}}/\text{nm}$	$\lambda_{\text{em}}/\text{nm}$	$\text{p}K_{\text{a}}$	pH response	Mechanism	Target	Ref.
NA01(1)			5.98				
NA01(2)	405	517	5.90	4.5~7.5	PeT	Lysosomes	[20]
NA01(3)			6.83				
NA02	409	525	6.18 ± 0.049	5.0~7.5	PeT	Mitochondria	[21]
NA03	430	535	—	5.0~7.0	—	Endoplasmic reticulum	[22]
NA04	405	467, 525	6.01	4.0~10.0	PeT, FRET	Intracell	[23]
NA05	462	550, 580	5.23	—	PeT, FRET	Lysosomes	[24]

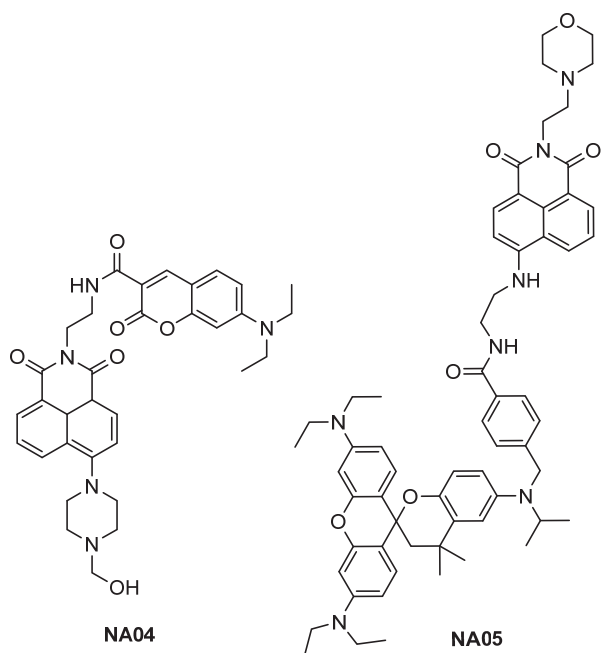


例如用于线粒体定位的苄基氯和三苯基膦基团以及用于癌症的 RGD 环肽(含有 Arg-Gly-Asp 序列的环肽)。

Zhou 等^[23]合成探针 NA04, 并使用哌嗪连接的氨基萘酰亚胺作为 pH 刺激的荧光团(FRET 受体)和 pH 不敏感香豆素荧光部分(FRET 供体)。该探针在碱性条件下通过哌嗪部分氨基中的孤电子对引发的 PeT 效应猝灭了萘酰亚胺的固有荧光, 但是氨基萘酰亚胺荧光团不是从香豆素供体接收能量的有效受体, 这导致了只显示香豆素单元的蓝色发射(467 nm)。酸化后, PeT 效应被哌嗪的质子化阻断, 这恢复了氨基萘酰亚胺片段的发射, 该片段可以充当有效的 FRET 受体, 而氨基萘酰亚胺单元主要显示出绿色发射(525 nm)。利用 F_{525}/F_{467} 作为监

测指标, 当 pH 值变化时, 探针在蓝色和绿色光谱窗口中表现出线性的双重任务信号变化。利用这些特性, 探针被用来可视化地塞米松诱导的细胞内 pH 变化和由氯喹诱导的溶酶体 pH 响应。

大多数报道的 pH 感知的荧光探针虽然很丰富, 但是大部分都遵循 Henderson-Hasselbalch 方程, 并且过宽的酸碱过渡宽度(2 个 pH 单位)对于 pH 值微小的变化的监测不具有优势。因此开发灵敏地感知微小的酸/碱转换宽度的 pH 探针具有重要意义。2021 年, Yang 课题组^[24]报道了一种用于感知溶酶体中 pH 微小变化的化学荧光探针(NA05)。NA05 通过将用于传感的基于罗丹明



Hill 型 pH 探针与 pH 不敏感的萘酰亚胺染料通过连接酰胺和吗啉单元(作为溶酶体定位基团)连接形成具有 FRET 能量转移机制的荧光传感器。其中,一个苄基和一个异丙基连接到对 pH 敏感的 N 原子上,以提供明显的 pK_a 接近溶酶体的 pH 值。萘酰亚胺部分对 pH 不敏感,可作为比率测定的自参考探针。其对罗丹明在 I_{580} 处的荧光强度和萘酰亚胺在 I_{550} 处的荧光强度作比值,再与 pH 值作非线性拟合获得曲线求得 pH 转换宽度为 1.56,小于遵循 Henderson-Hasselbalch 方程的常规 pH 探针的 2 个 pH 单位。

1.2 极性探针

极性通常被定义为 Lippert 与 Mataga 提出的极性参数 f 或者由 Reichardt 和 Dimroth 提出的经验参数 $E_T(30)$ 它们的计算公式分别为(1)与(2)如下所示^[25-26]。

$$f(\epsilon, n) = \frac{\epsilon - 1}{2\epsilon + 1} - \frac{n^2 - 1}{2n^2 + 1} \quad (1)$$

其中, ϵ 为溶剂的介电常数, n 为溶剂的光学折射率。

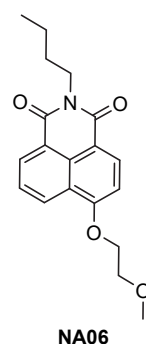
$$E_T(30) = 2859\lambda^{-1} \quad (2)$$

其中, λ 是 Reichardt 染料在溶剂中测定该体系的紫外可见吸收光谱而获得的最长的吸收谱带波长。

它是另一类重要的微环境因素,可以调节一些细胞功能性生物分子并启动一些生物过程^[27]。通常设计极性探针原理如下所述:构建具有电子供体(D)和电子受体(A)基团的 D-A 共轭结构框架,这会导致此种结构中的大偶极,并且基态和激发态的偶极矩将响应极性变化而显示出显著的变化。这样,分子的激发态通常会发生 ICT 效应,极性和非极性环境之间溶剂化能的变化会导

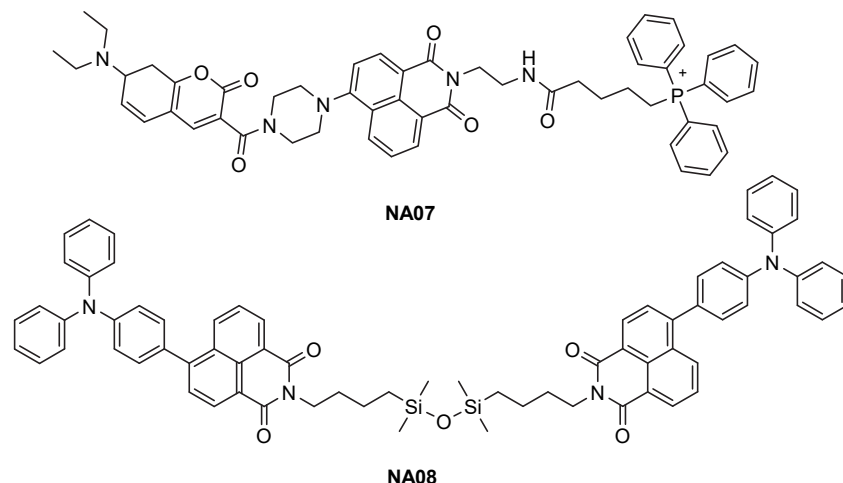
致吸收和发射光谱中波长的变化(红移或蓝移)或强度的变化(增加或减少)。作为萘酰亚胺衍生物很容易实现上述的要求,可以在萘酰亚胺的 4 号 C 位连接电子供体基团,与萘酰亚胺形成 D-A 结构产生 ICT 效应。

2010 年, Xiao 等^[28]开发了探针 NA06,它是用 2-甲氧基乙氧基取代萘酰亚胺的 4 号 C 位合成的,该部分充当电子供体,这与萘酰亚胺结构形成了 D-A 结构,从而使得该探针在不同的极性溶剂中均观察到在紫外可见光谱和荧光发射光谱中的红移现象。同时,其低毒性和良好的水溶性被用于 Hela 细胞成像。

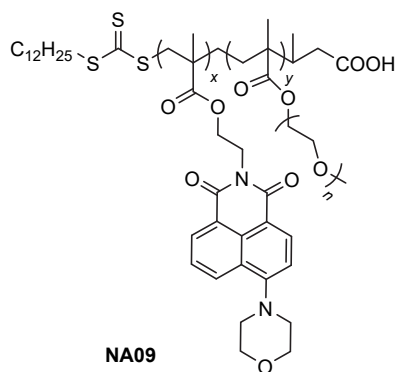


尽管已经开发了一些极性敏感的探针,但是很少能响应大范围的极性区间。通常可以通过共轭方法将两个极性响应基团连接。基于双 ICT 效应的靶向线粒体的探针 NA07 表现出在大范围极性标度 f 内的灵敏的响应^[29]。该探针是使用萘酰亚胺单元(极性敏感)、香豆素单元(极性敏感)、三苯基膦基团(线粒体靶向基团)开发的。当其介质由水(高极性溶剂)变为 1,4-二噁烷(低极性溶剂)时,探针的发射强度增强了 118.1 倍。这与单一荧光团的发射强度变化有明显差异(仅有香豆素单元为 25.2 倍,仅有萘酰亚胺单元为 4.2 倍)。这归因于 NA07 与高溶剂之间的偶极-偶极相互作用太强猝灭了荧光,而在低极性溶剂中上述效应的消失而释放了荧光,并且这种强烈的荧光发射是香豆素单元与萘酰亚胺单元两种极性敏感的结果。此外,该探针在各种溶剂中表现出 110~130 nm 的大斯托克斯位移。更为重要的是, NA07 的所有荧光发射特性(发射强度、量子产率和寿命)都随周围极性的变化呈现线性关系。NA07 探针被成功地用于区分癌细胞和正常细胞。因为在癌细胞、组织和实体瘤(低极性环境)中可发出强荧光,而在正常细胞、组织和器官(高极性环境)中几乎没有观察到荧光。

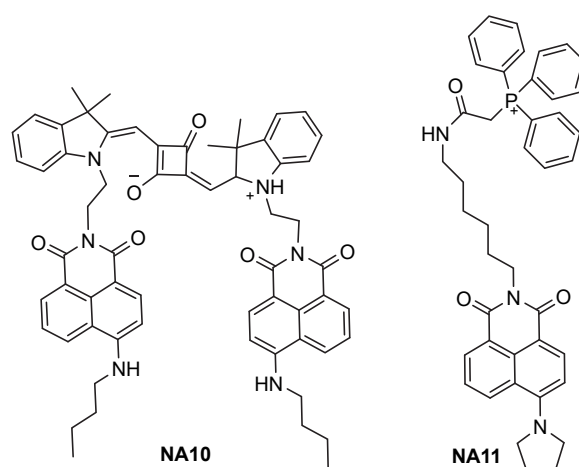
脂滴(LD)通常被认为是癌症的生物标志物,癌细胞内存在着大量的 LD,这些脂滴提供了疏水环境并导致细胞内的极性降低。为了监测脂滴的极性变化,2021 年 Lin 课题组^[30]开发了一种基于 Si—O—Si 键的新型探针



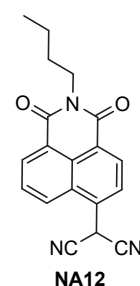
NA08 在激光共聚焦扫描显微镜下成功区分了癌细胞与正常细胞. 其中 Si—O—Si 键的柔韧性使得两边的荧光团三苯胺(供体)-萘酰亚胺(受体)部分表现出兼有溶剂极性敏感性(ICT)和 AIE 增强的荧光特性. 这种 AIE 增强特性允许该探针在高浓度脂滴微环境中发光. 最终 **NA08** 会聚集在极性较低的 LD 上的癌细胞中发出强烈的绿点状荧光, 而在正常细胞中发光很弱. 另一种用于 LD 成像的聚合物探针 **NA09** 在 2022 年报道^[31]. 该探针不仅靶向 LD, 还能定位溶酶体. 此外, 大的斯托克斯位移(近 130 nm)提高了探针的分辨率.



此外, 还报道了基于萘酰亚胺的双光子荧光探针用于极性的比率检测. 基于 FRET 原理的双光子荧光团的氨基萘酰亚胺-方酸非共轭体系探针 **NA10**^[32], 其中 4-氨基萘酰亚胺(NPH)作为能量供体, 吡啶方酸衍生物(SQ)作为能量受体, 并且在以 $E_T(30)$ 作为介质极化率的情况下从甲苯(33.9)到甲醇(55.4)荧光强度比值 $I_{SQ/NPH}$ 呈现线性响应. 此外, 在荧光寿命的实验中也表现出相同趋势的响应. 另一方面, 大的双光子吸收截面(4500 GM), 使得该探针被成功用于双光子(880 nm)染色 N13 小鼠小胶质细胞. 类似的, 另一种萘酰亚胺双光子荧光探针 **NA11** 被 Xiao 团队构建^[33]. 该探针成功跟踪了线粒体的极性分布并绘制了双光子荧光图像.



尽管下述的探针没有被应用于细胞中的极性成像, 但是设计探针的原理可以被借鉴. Zhu 团队^[34]合成了基于溶剂控制互变异构的基态质子转移(GSPT)溶剂致变色探针 **NA12**. 该探针的丙二腈部分是设计这互变异构的关键. 在极性溶剂中, 二氰基和萘酰亚胺发色团之间的质子供体次甲基氢通过萘酰亚胺发色团转移到质子受体 C=O, 形成 **NA12**-烯醇. 此外, 二氰基成为新的共轭体系的电子受体, 原来的电子受体 C=O 转化为电子供体 OH 形成电荷转移. 这些现象导致了荧光发射红移至 620 nm. 并且在时间相关的密度泛函理论(TD-DFT)计算中也证明了上述异构化过程中存在质子转移耦合电荷转移.



1.3 粘度探针

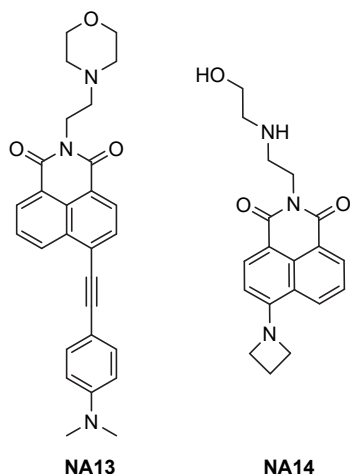
亚细胞器粘度是最重要的微环境理化参数之一,它可以通过影响活细胞内生物分子和化学信号的相互作用和运输来发挥生物功能^[1,35].因此有必要开发针对微环境粘度以及粘度变化响应的探针.近年来,用于监测微环境粘度的基于NA的光学探针的检测特性如表2所示.该部分阐述了萘酰亚胺衍生物响应粘度的设计与应用.

表2 基于萘酰亚胺衍生物监测微环境粘度的性能汇总

Table 2 Performance summary of monitoring microenvironmental viscosity based on naphthalimide derivatives

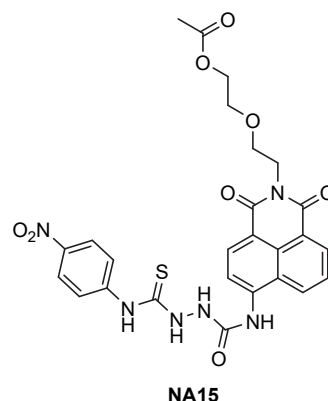
Probe	λ_{ex}/nm	λ_{em}/nm	Target	Mechanism	Ref.
NA13	460	535	Lysosomes	TICT	[36]
NA14	440	560	Cell membranes	ICT	[37]
NA15	405	470	Intracell	TICT	[38]
NA16(1)	510	580			
NA16(2)	547	614	Mitochondrial	TICT	[39]
NA16(3)	533	630			
NA17	—	452, 473	—	AIE, TICT	[40]
NA18	360	526	—	TICT, FRET	[41]
NA19	580	635	Mitochondrial	TICT	[42]

为了对细胞内溶酶体的自噬过程进行灵敏监测, Hou 等^[36]开发了一种双光子荧光探针 NA13, 用于对溶酶体自噬过程的粘度随荧光探针的荧光寿命呈线性关系进行自噬过程成像. 其中通过将吗啉(溶酶体定位基团)和二甲氨基苯基团(粘度响应探头)引入到荧光团萘酰亚胺作为设计思路. 在粘度体系升高的情况下, 该探针的荧光发射强度越来越强, 并且具有线性关系. 此外, NA13 在不同粘度溶液中的荧光寿命也表现出相似的粘度变化趋势, 更为重要的是, 在溶酶体的 pH 范围(4.5~5.5)内和各种外来干扰物中是不敏感且稳定的. 亚细胞的荧光共定位实验也表明, 该探针可用来定位活细胞的溶酶体. 此外, 由于引进的苯乙炔基增强了萘酰亚胺的

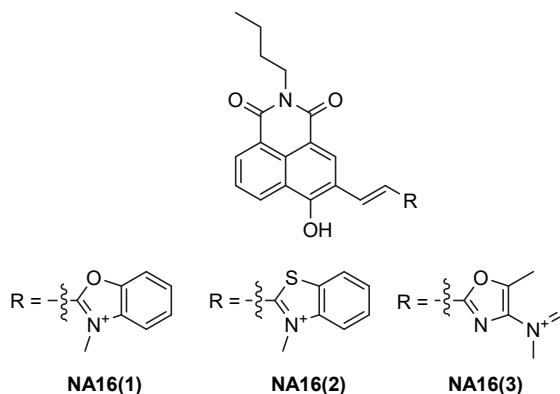


双光子吸收截面(从 322 GM 增加到 605 GM), 使得该探针在 860 nm 的双光子激发下成像了溶酶体自噬过程中粘度的变化. 探针 NA14^[37]通过的另一种机制(ICT)显示在 560 nm 的荧光强度随着甘油比例的增加而增加, 并且在纯甘油时探针的荧光各向异性约为 0.3. 更为直观的是, 溶液的颜色也随着系统中甘油含量的增加而变化. 此外, 该系统被用于细胞膜附近粘度监测.

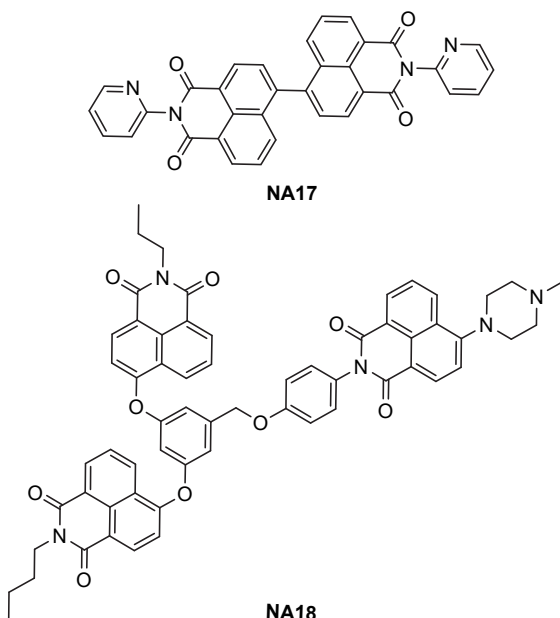
许多探针已经通过引入具有粘度传感位点的其他旋转单键被开发出来. N—N 单键的有限旋转已经被广泛用来作为监测位点. 在探针 NA15 中^[38], 由连接到萘酰亚胺的 4-(4-硝基苯基)氨基硫脲和增加溶解度的乙酰化乙二醇基团构成. 添加的 4-(4-硝基苯基)氨基硫脲增强了萘酰亚胺的 TICT 效应, 导致荧光猝灭. 通过对 N—N 单键的有限旋转, 即在粘度为 1.005~523 cP 的范围内, 探针 NA15 的吸收带从 385 nm 移动到 360 nm, 在荧光光谱中 470 nm 处的强度显著增加. 此外在 HeLa 细胞的共聚焦显微成像实验中, 使用制霉菌素调制(增加粘度)处理的细胞与未处理的细胞相比荧光强度增加了约 2 倍.



C—C 单键也可以被限制旋转, 作为感知生理微环境粘度的变化. Ge 小组^[39]报道了 3 种相似的探针 NA16(1)、NA16(2)、NA16(3). 该探针由两部分构成, 其中一种是 1,8-萘酰亚胺衍生物作为给电子单元和苯并噁唑(苯并噁吩或噁唑并[4,5-*b*]吡啶)作为电子接受单元引入到探针中. 由于扭曲的分子内电荷转移(TICT)效应, 导致探针微弱的荧光, 显示关闭状态. 但是引入的含氮杂环和 C=C 双键之间的 C—C 单键在从 0.95 cP 增加到 945 cP 粘度环境变化情况下, 在 580 nm 处的荧光强度持续增加, 比在甲醇中提高了约 18.67 倍, 这归因于环境粘度抑制了 C—C 单键之间的旋转, 从而恢复了固有荧光. 此外在高粘度溶剂中具有高的荧光量子产率(34.3%~85.4%). 这些良好的光物理参数成功地把探针用于 HeLa 细胞中线粒体粘度波动的监测.



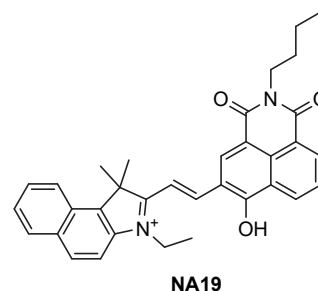
尽管探针 **NA17**, **NA18** 这两个例子没有被用于对细胞粘度的成像, 但是这些作者都预期了这些探针的设计将会在细胞生物成像方面具有很高的潜力. 类似的设计还有, 通过扭曲的 C—C 单键将两个相同的萘酰亚胺片段在 4 号 C 位进行共轭获得探针 **NA17**, 并被用于监测粘度的变化^[40]. 在该探针中, 一方面在低粘度体系中扭曲的 C—C 单键由于分子内旋转(RIR)效应的限制, 导致在平面状态下输出较长的发射(473 nm). 另一方面, 随着体系粘度的增加, 因为介质的旋转抑制效果(TICT 效应)优于聚集体诱导的抑制, 导致了探针在该粘度中表现出强烈的 452 nm 荧光发射. 这种双重(从 452 nm 到 473 nm)发射特性导致荧光比($I_{473/452}$)对具有不同比率的甘油/水系统的粘度产生线性的对数响应. 有趣的是, 它还表现出与温度相关的粘度变化.



此外 C—N 单键亦是一种有效的 TICT 设计策略. Bojinov 研究小组^[41]开发了基于 FRET 的粘度探针 **NA18**. 它是使用 4-哌嗪基-1,8-萘酰亚胺作为 TICT 转子

和受体荧光团, 4-苯氧基-1,8-萘酰亚胺作为供体荧光团, 这两部分通过具有集光功能的苄基醚单元共价连接. 集光部分允许探针直接捕获了 360 nm 的激发光的能量, 导致了该系统从供体单元到受体单元高效的 FRET, 高达 99.1%. 另外在高粘度的甘油溶剂测试中, 由于严重限制了分子内键的旋转, 从而阻止了 TICT 过程, 导致 166 nm 的大范围红移和在 526 nm 处的荧光显著增强(较低粘度乙二醇高约 6 倍), 并且在荧光强度(526 nm)和溶剂粘度之间观察到的双对数标度关系显示出良好的线性.

2020 年, 一种基于 TICT 的线粒体靶向监测粘度的红光荧光探针 **NA19** 被报道^[42]. 该探针通过 C=C 双键连接萘酰亚胺和苯并[e]呋喃. 该探针的设计使得苯并[e]呋喃可以靶向线粒体, 而其中的 C—C 单键在低粘度溶液中自由旋转形成扭曲的 TICT, 这猝灭了固有荧光. 在高粘度环境中, 分子内旋转受到抑制, 导致在 635 nm 处的荧光增强. 根据理论计算, 观察到在低粘度的环境中, 乙烯基和苯并[e]呋喃基团为该探针的最高占据分子轨道 HOMO, 而萘酰亚胺组分是该探针的最低未占分子轨道 LUMO, 这导致了从苯并[e]呋喃到激发态的萘酰亚胺基团的强电荷转移. 而高粘度溶剂破坏了这种抑制, 恢复了强烈的荧光(106 倍). 在 Mito Tracker 绿色存在的情况下, 探针的 Pearson 系数高达 0.93. 因此, 该探针被成功用于监测活细胞中线粒体的粘度, 并在炎症细胞和高血糖小鼠的血液中证明了粘度的异常增加. 此外, 该探针是水溶性的, 生物相容性的, 并具有长波长发射.

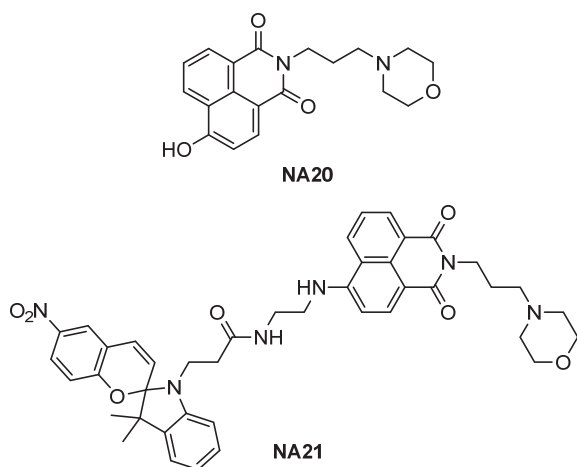


1.4 温度探针

温度作为影响生物微环境状态的典型参数, 对生命活动至关重要. 尽管细胞可以响应并调节细胞内温度, 但是由外部理化刺激导致细胞温度如何变化, 以及外界温度如何影响细胞内的生化环境仍然未知^[43-44]. 因此, 细胞内实时、准确的温度探头仍是迫切需要的. 该部分综述了基于萘酰亚胺衍生物对于生理微环境中的温度监测.

中暑(体温高于 40.6 °C)导致的溶酶体酸性水平变

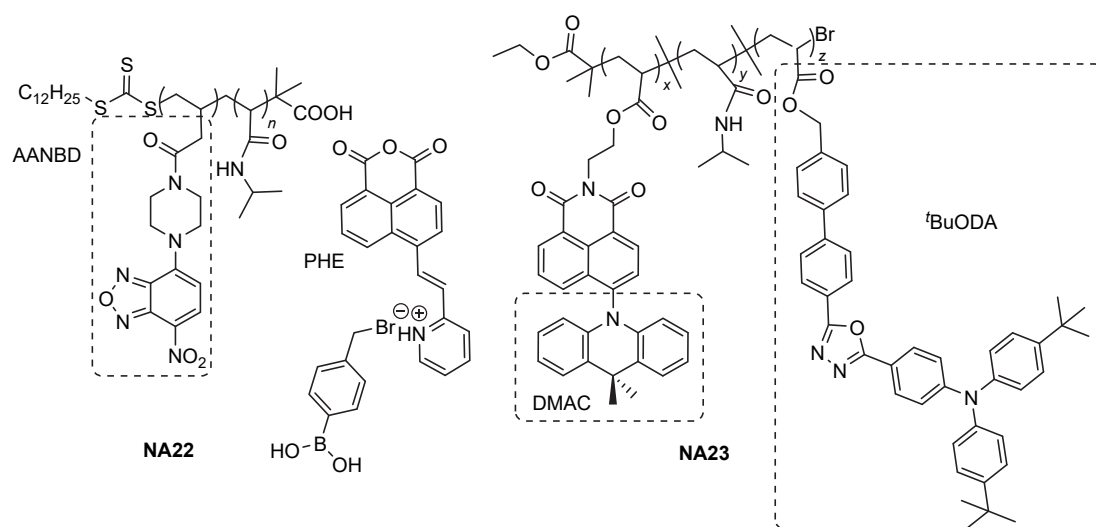
化可以反过来反映温度的变化. 2017 年, Yin 等^[45]根据上述原理报道了用吗啉基团靶向溶酶体, 而萘酰亚胺 4 号 C 位被 pH 传感的羟基取代的探针 **NA20**. 共定位实验中探针的红绿荧光图像的 Pearson 系数高达 0.90, 表明了该探针靶向了溶酶体. 在 37、41 和 45 °C 的中暑模型中绿色通道(550 nm)的荧光强度随着温度的升高而明显增加, 但是在非中暑模型中 550 nm 处的荧光强度并不随单纯的温度而变化, 这些表明了溶酶体 pH 值变化与中暑的相关性. 而于此类似的探针 **NA21** 被靶向溶酶体并监测了溶酶体中的 SO₂, 用上述相似的实验证明了溶酶体中的 SO₂ 浓度改变与中暑时细胞温度的相关性^[46].

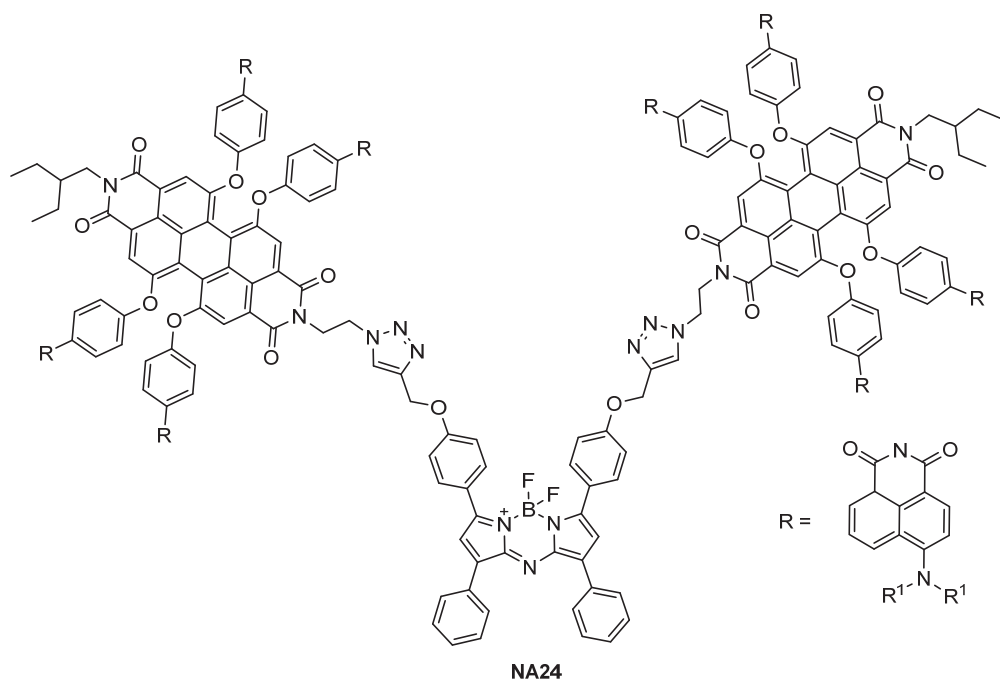


温度感应的识别除了上述与一些理化性质和活性物质相关的机制外, 还可以在荧光探针处通过聚合方法将热敏聚合物作为温度传感接头装备到荧光探针上, 或者将荧光探针与热敏聚合物混合一起作为识别温度的探针. 作为常用的例子, 聚异丙基丙烯酰胺(PNIPAm)通常因为在水中的临界溶解温度(LCST)较低(为 32 °C), 接近生理温度而被广泛用于生物热敏响应. Qi 研究小

组^[47]设计了将荧光探针混合 PNIPAm 制备成探针的例子, 他们开发了探针 **NA22** 用于同时感知细胞内温度和去甲肾上腺素(NE)的变化. 它与 NE 传感器 PHE 混合一起掺入作为探针. PHE 的萘酰基团可以与 NE 的伯氨基键合形成萘酰亚胺衍生物, 用于选择性传感 NE. 而另一部分热敏聚合物, 其 PNIPAm 作为热敏传感部分, AANBD 作为极性敏感的荧光染料. 在 30~39 °C 的温度区间, 该探针的荧光强度与温度呈线性关系, 这归因于 PNIPAm 部分在升高温度时从亲水性转变为疏水性, 增加了 AANBD 周围的极性, 从而增加了荧光发射. 更为重要的是, 该探针可以在 30~42 °C 重复可逆工作, 这些温度是细胞通常可及的工作环境. 因此该探针被成功地用于传感 PC12 细胞的温度变化. 另一种是 Hudson 等^[48]通过聚合方法将热敏聚合物制备成探针 **NA23**. 该探针由两部分聚合物构成: 第一部分为萘酰亚胺-9,10-二氢-9,9-二甲基吡啶(NA-DMAC), 该部分由作为热敏响应接头的聚异丙基丙烯酰胺、NA 萘酰亚胺与 DMAC 共聚而成, 兼作和温度相关的发射曲线的紫外/红色双发射部分与 FRET 的供体部分. 第二部分为 ^tBuODA 蓝色荧光团, 作为 FRET 的受体. 通过调整这两部分之间的比例和空间结构形态(星形、线型等), 可以获得在温度升高时具有红色到白色到蓝色荧光转变的热响应聚合物探针, 且有 28%~36% K⁻¹ 的高比率荧光热响应.

另一种实现温度传感的策略是改变探针体系中充当供体与受体之间的 FRET 效率的调节, 因为温度可以诱导探针化合物构象变化, 从而改变探针中供体与受体基团之间的距离, 调节 FRET 的程度, 进而改变两个发射峰强度之间的比例. Sengupta 等^[49]根据上述原理设计了多色探针 **NA24**, 它是由能量供体萘酰亚胺和花二酰亚胺, 能量受体中央氮杂 BODIPY 组成, 它们之间显示





了有效的级联 FRET. NA24 显示出明显的温度相关发射行为, 其中绿色和红色通道中的发射强度可以通过温度在相反方向上调节, 从而产生独特的比率传感, 温度灵敏度为 0.4% °C.

2 活性硫物质探针

2.1 硫化氢与多硫化物的检测探针

硫化氢(H_2S)是一种生理系统中第三个关键的内源性气体信使. 多硫化氢(H_2S_n)可以由体内的活性氧与 H_2S 反应生成, 并且有证据表明 H_2S_n 可能是某些生化过程的实际信号分子, 其效力比 H_2S 更高^[50-53]. 尽管已知生物系统中的 H_2S 和 H_2S_n 水平与许多生理和病理过程有关, 但许多潜在的分子事件仍然未知, 需要有效方法在活的生物系统中进行高灵敏度 H_2S 检测, 而基于 NA 的光学探针可以作为监测 H_2S 与 H_2S_n 的一种方法. 大多数报道的 NA 检测 H_2S 与 H_2S_n 主要基于三种策略: 叠氮基的还原反应策略、亲核取代硫解策略和亲核加成策略. 其中用于监测 H_2S 与 H_2S_n 的基于 NA 的光学探针的检测特性如表 3 所示.

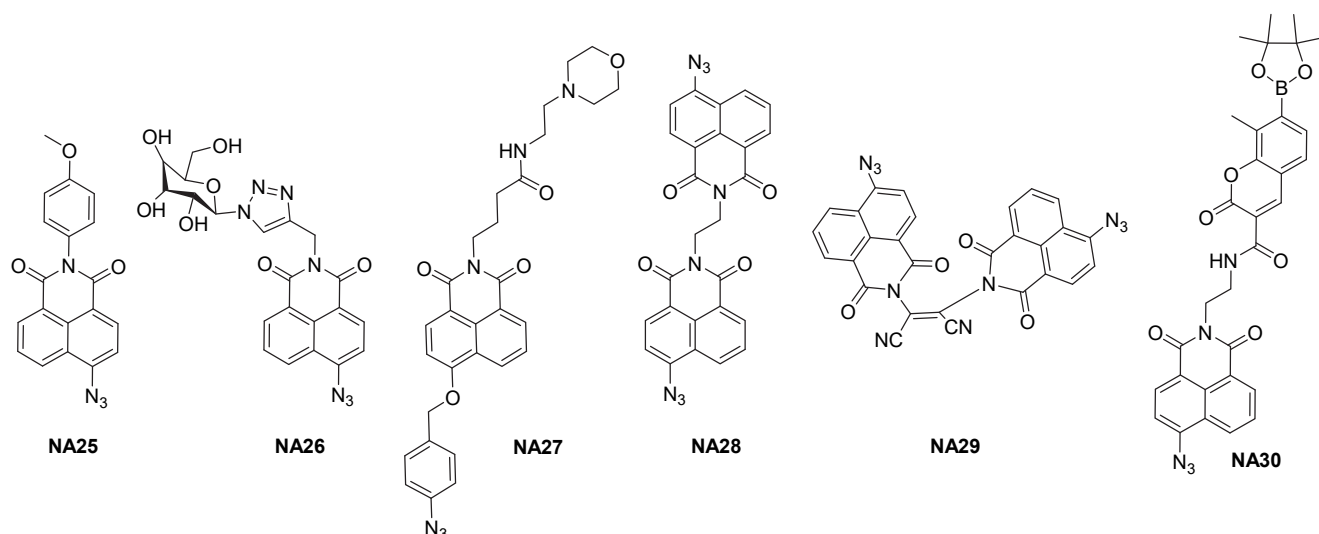
2.1.1 叠氮基还原反应策略

由于 H_2S 是一种相对强的还原物质, 因此可以设计 H_2S 专门的识别位点构建探针. 许多荧光探针已经通过引入具有被 H_2S 还原反应为氨基的叠氮基被开发出来. Zhang 等^[54]通过将叠氮基直接引入到萘酰亚胺的 4 号 C 位形成荧光探针 NA25, 它在加入 H_2S 后, 吸收带 358 nm 处减小, 443 nm 处增加, 这种红移表明探针中的叠氮基被还原为氨基, 致使探针 ICT 效应减弱, 并在 557 nm

处的荧光开启响应. 此外在 HRMS 光谱中出现 319.09 处的峰也印证了上述的推想. 探针 NA26 也是用了相同的原理构建^[55]. 除了直接在萘酰亚胺的 4 位连接叠氮基外, 也可以通过其他基团间接连接叠氮基. Jiang 研究组^[12]将 4-(叠氮甲基)苯氧基团引入到萘酰亚胺的 4 位, 设计了探针 NA27, 该探针被提议用于比率成像溶酶体中. 在 H_2S 存在下, 4-(叠氮甲基)苯氧基团中的叠氮基被还原为胺基, 随后释放 4-氨基苯醇, 导致绿色通道中的荧光增强, 蓝色通道的荧光随之减弱. 这种由于 ICT 效应导致的大斯托克斯位移(100 nm), 表现出对外源 H_2S 具有比率成像行为. 正如预期的那样, 在 HepG-2 细胞中观察到, 对硫化氢浓度的监测随发射比(绿色/蓝色)逐渐增加. 尽管单个的叠氮基能被 H_2S 还原响应, 但是大多数探针响应时间很长, 通常需要 1~2 h. 而双位点探针通常比单边不对称结构更快、更灵敏. 2019 年, Huo 小组^[14]报道了活细胞中 H_2S 监测, 该探针是基于具有两个叠氮基识别位点和对称结构的 ICT 效应增强的荧光探针 NA28. 在用 H_2S 处理后, 观察到 532 nm 处的荧光强度在 150 s 内增强了近 20 倍, 这是只有一个反应叠氮基的 2 倍左右, 这证明了双个叠氮基团方案的好处. 与上述相似的基于双个叠氮基的探针 NA29 被构建^[13], 同时检测多种分析物近年来被热门报道. 2019 年, Bhuniya 团队^[56]设计了香豆素-萘酰亚胺 FRET 化合物 NA30 作为 H_2S 和 H_2O_2 探针. 在添加 H_2O_2 之前, 该探针并不发出荧光, 而在加入 H_2O_2 之后, 由于 FRET 过程受阻, 该化合物显示来自香豆素组的强烈蓝色荧光. 添加 H_2S 后, 叠氮基部分被巯基(SH)进攻还原为氨基, 开启了

表 3 基于萘酰亚胺衍生物检测 H_2S 与 H_2S_n 的检测特性
Table 3 Detection characteristics of H_2S and H_2S_n based on naphthalimide derivatives

Detection target	$\lambda_{\text{ex}}/\text{nm}$	$\lambda_{\text{em}}/\text{nm}$	Response time	Detection limit	Mechanism	Ref.
H_2S	450	557	—	17.4 nmol/L	ICT	[54]
H_2S	426	550	—	0.78 $\mu\text{mol/L}$	—	[55]
H_2S	405	450 550	45 min	40 nmol/L	ICT	[12]
H_2S	440	532	150 s	0.02 $\mu\text{mol/L}$	ICT	[14]
H_2S	388	452	10 s	1.5 $\mu\text{mol/L}$	PeT, ICT	[13]
H_2S	450	550	60 min	0.523 nmol/L	FRET	[56]
H_2S_n	450	548	6 min	0.15 $\mu\text{mol/L}$	ICT	[57]
H_2S_n	405	478 546	10 min	0.01 $\mu\text{mol/L}$	ICT	[58]
H_2S	—	550	—	—	PeT	[59]
H_2S	365	450	200 min	—	—	[11]
H_2S	310	550	5 min	0.23 $\mu\text{mol/L}$	PeT, ICT	[60]



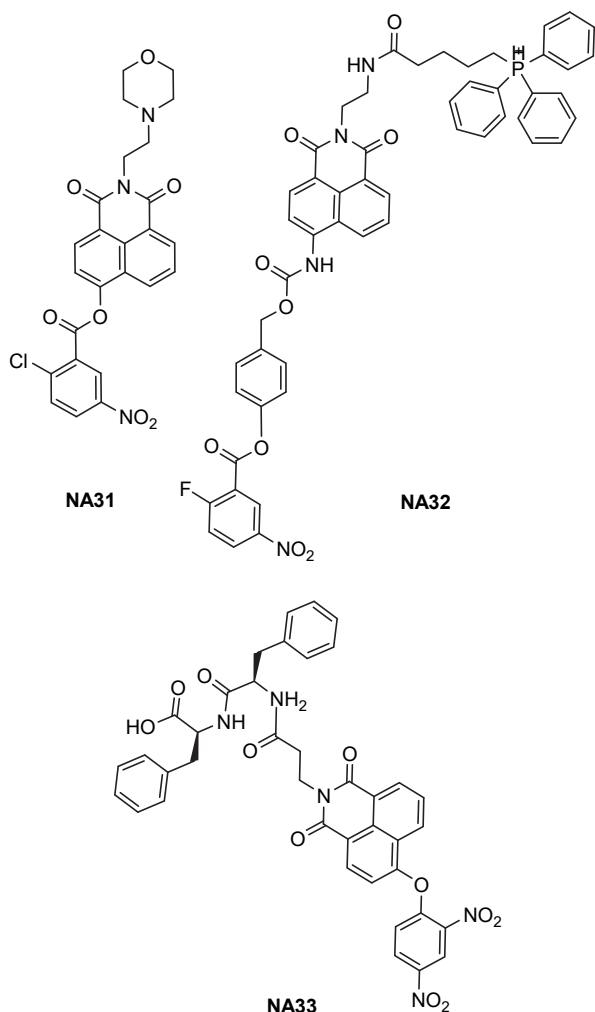
FRET 过程, 导致发射来自萘酰亚胺的绿色荧光. 这种双通道多色响应的差异被成功用于追踪癌细胞中内源性 H_2S 、 H_2O_2 的形成.

2.1.2 亲核取代硫解策略

除了上述利用 H_2S 、 H_2S_n 还原性外, 硫解反应也被用来作为识别机理引入到探针中, 其中一些强吸电子基团, 如 2-氯-5-硝基苯甲酸酯基团, 也被作为 SH 亲核取代的离去基团. 尽管这些离去基团可以直接或间接与萘酰亚胺支架相连, 但在报道的案例中, H_2S 诱导的分解可以恢复萘酰亚胺的荧光. Tian 等^[57]研究了 2-氯-5-硝基苯甲酸酯-萘酰亚胺偶联物作为一种新的基于反应的 H_2S_n 探针 **NA31**. 正如前述的那样, H_2S_n 选择性的诱导切割酯基导致芳族取代环化反应, 释放出萘酰亚胺荧光团, 显示荧光变化. 在存在和不存在 H_2S_n 的情况下, 在 548 nm 处的荧光强度比 I_{548}/I_{478} 大约 10 倍. 此外, 该反应可以通过高效液相色谱(HPLC)和 HRMS 光谱来跟踪. 探针 **NA31** 与 Na_2S_4 的裂解反应后的产物经 HPLC 实验, 发现出现峰的保留时间与 4 号 C 位羟基取代的 **NA31**

(**NA31-OH**)一致. 另一方面, 在 HRMS 中也出现了对应于 $[\text{NA31-OH} + \text{H}]^+$ (327.1347)的峰. 这些结果均证实了 SH 亲核取代和 2-氯-5-硝基苯甲酸酯基团部分消除的结果. 另一种类似的探针 **NA32** 合成用了硝基化的氟苯甲酸酯基团, 通过酰胺连接到萘酰亚胺^[58]. 该探针已被用于线粒体中 H_2S_n 的可视化比率监测. 随着 H_2S_n 的浓度增加, 荧光颜色从蓝色(478 nm)变为绿色(546 nm), Na_2S_2 的浓度从 12 $\mu\text{mol/L}$ 至 25 $\mu\text{mol/L}$ 对荧光强度比值 $I_{546 \text{ nm}}/I_{478 \text{ nm}}$ 呈线性响应. 这种响应也归因于硝化的氟苯甲酸酯被 H_2S_n 诱导, 发生亲核芳族取代, 释放出荧光团萘酰亚胺.

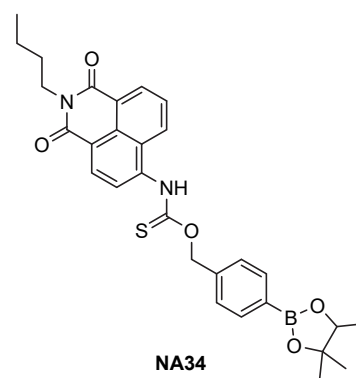
二硝基苯基在亲核取代和荧光中不仅具有离去基团的功能, 此外还有作为 PeT 荧光猝灭基团的能力. 基于这一理论, Verma 课题组^[59]报道了一种新的基于萘酰亚胺的探针 **NA33**, 用于具有比色和荧光双重信号的 H_2S 检测. 其中萘酰亚胺部分作为荧光团, 2,4-二硝基苯醚部分作为荧光猝灭剂, 而二苯丙氨酸基短肽部分用来诱导细胞凋亡. 在添加 H_2S 后, **NA33** 的吸收带从 350



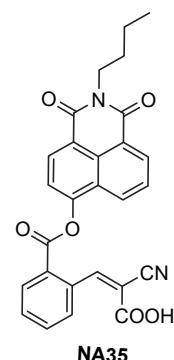
nm 红移至 440 nm, 导致溶液的颜色从无色变为黄色, 并且在 550 nm 处发出荧光. 紫外-可见滴定实验表明, 2,4-二硝基苯硫醇的吸光度集中在 418 nm, 证明亲核试剂 SH⁻ 离子对二硝基苯环的攻击导致了 2,4-二硝基苯基团的离去, 释放出萘酰亚胺荧光团. 2022 年, Zhang 课题组^[11]开发了一种活性氧(ROS)触发供体 **NA34**, 它可提供 H₂S, 同时产生荧光团, 以实时监测 H₂S 在体外和体内的释放过程. 该探针由苯基硼酸频哪醇酯通过硫代氨基甲酸酯连接到 4-氨基-N-丁基-1,8-萘二甲酰亚胺构成. 其中芳基硼酸酯充当 H₂O₂ 的识别单元, 而硫代氨基甲酸酯作为吸电子基团猝灭荧光. 该探针可以被活细胞中 H₂O₂ 激活, 释放出 545 nm 处荧光, 与之相伴的是该探针会离去羰基硫化物, 而该化合物会在碳酸酐酶(CA)水解释放 H₂S. 这种释放的 H₂S 的数量恰与探针的荧光强度呈线性关系. 该探测系统被成功用于监测斑马鱼模型的炎症中释放的 H₂S.

2.1.3 亲核加成策略

H₂S 在生理 pH 条件下的主要阴离子形式(HS⁻)具有很强的亲核性, 多种萘酰亚胺衍生物可以通过亲核加



成到 α,β -不饱和酮上的部分正电荷位点来识别 H₂S. 应用上述策略设计合成的探针 **NA35**^[60], 可用于快速定量检测 H₂S 的浓度, 并在 550 nm 处出现荧光发射增强, 且与 H₂S 在 0 μ mol/L 至 20 μ mol/L 浓度区间呈现良好的线性关系. HS⁻ 基团被认为是通过迈克尔加成添加到缺电子的碳碳双键上, 而随后 HS⁻ 进一步进攻相邻的羰基, 导致分子内环化, 释放出萘酰亚胺荧光团. 通过 ¹H NMR 和 ¹³C NMR 确认了环化产物的存在. 而与其他 Cys、Hcy 和 GSH 等生物硫醇作用时并不会自发环化.



2.2 生物硫醇的检测探针

生物硫醇(Biothiols)主要指半胱氨酸(Cys)、同型半胱氨酸(Hcy)和谷胱甘肽(GSH), 它们具有相似的结构, 导致相似的化学性质, 但在不同的生理活动中发挥不同的作用^[61-63]. 大多数报道的构建检测三种相似生物硫醇的萘酰亚胺衍生物的光学探针主要基于以下策略: 亲核加成策略、芳族亲核取代策略、重金属离子置换策略和其他策略. 在某些情况下, 加成或取代反应直接发生在萘酰亚胺部分, 而在其他情况下, 反应发生在其他基团上, 传感行为将触发 ICT 或 FRET 过程, 从而调整设计探针的荧光特性. 近年来, 用于监测生物硫醇的基于萘酰亚胺衍生物的光学探针的检测特性如表 4 所示.

2.2.1 亲核加成策略

近来报道的马来酰亚胺基团(MAL)易于与亲核试剂生物硫醇发生迈克尔加成反应, 根据反应动力学之间

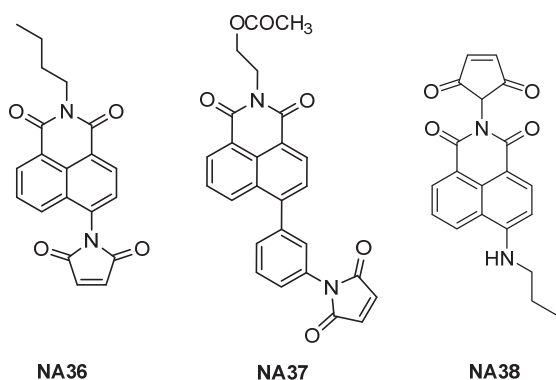
的差异,可以区分相似结构的生物硫醇. 2016 年, Wang 研究组^[64]设计了探针 **NA36**, 其中萘酰亚胺荧光团部分作为强吸电子基团引入到缺电子体系的 MAL 中, 增强其亲电性能. MAL 起着了双重作用: 一方面, 它通过 PeT 过程猝灭了萘酰亚胺荧光团的荧光, 这可以用 DFT 计算来证明; 另一方面, 它可以作为生物硫醇的迈克尔受体, 从而改变 MAL 的电子特性, 导致 PeT 猝灭效应减弱, 这使得 473 nm 处的荧光增强. 在生理条件下, 该探针对 Cys 的选择性远远高于 GSH 和 Hcy, 这归因于

MAL 受到硫醇巯基(SH)的快速进攻, 发生的迈克尔加成和随后的快速形成六元环的速度明显快于在 Hcy 和 GSH 的情况下形成七环和更高环的速度. 此外, 荧光滴定实验也证明了 Cys 与探针的级联反应动力学两步之间的一阶与二阶速率常数差异, 是引入的吸电子体系萘酰亚胺增强了马来酰亚胺基团的亲电性的结果. 探针已经证明了其在活细胞的 Cys 成像中的实际应用潜力. 基于相似的结构, 为了提高探针光诱导电子转移的灵敏度, Hou 等^[17]建议将苯环共轭到萘酰亚胺的 4 号 C 位, 提出

表 4 基于萘酰亚胺衍生物检测生物硫醇和与生物硫醇相关的酶与蛋白质的性能特性
Table 4 Detection of biothiols and enzymes and proteins related to biothiols based on naphthalimide derivatives

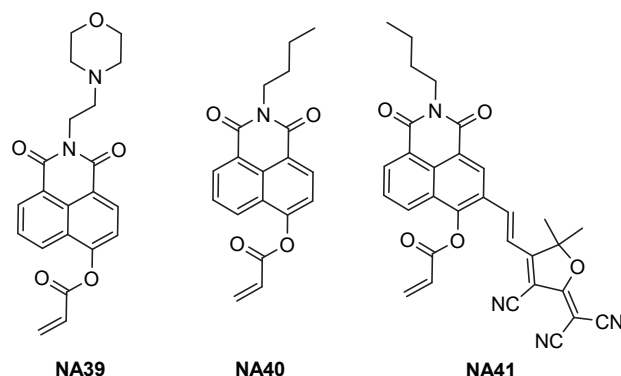
Probe	Detection target	λ_{ex}/nm	λ_{em}/nm	Response time	Detection limit	Mechanism	Ref.
NA36	Cys	350	473	10 min	2.0 nmol/L	PeT, ICT	[64]
NA37	GSH	356	441	2 min	1.1 nmol/L	PeT	[17]
	Hcy			1 min	3.2 nmol/L		
NA38	Cys	455	558	15 min	12 nmol/L	PeT	[65]
NA39	Cys	435	550	8 min	69 nmol/L	PeT	[66]
	Hcy			—	90 nmol/L		
	GSH			—	100 nmol/L		
NA40	Cys	—	430, 547	10 min	80 nmol/L	ICT	[67]
NA41	Cys	620	665	20 min	93 nmol/L	ICT	[15]
NA42(3)	GSH	380	498	—	50 nmol/L	ICT	[68]
	Cys	380	451		200 nmol/L		
		420	535				
NA43	Cys	360	435	50 min	27.9 nmol/L	—	[69]
		660	733				
	Hcy	360	475	75 min	30.1 nmol/L		
		660	733				
NA44	Cys	402	559	55 min	0.87 μ mol/L	FRET	[70]
NA45	GSH	345	490	6 h	0.8 μ mol/L	—	[71]
	Hcy		490, 552		0.1 μ mol/L		
NA46	GSH	370	495	5 h	—	PeT	[72]
NA47	GSH	330	496	10 h	1.9 μ mol/L	—	[73]
NA48	GSH	350	495	—	9.3068 mmol/L	—	[74]
NA49	Cys	418	541	—	0.42 μ mol/L	—	[75]
	Hcy				0.105 μ mol/L		
	GSH				4.34 μ mol/L		
NA50	Biothiols	410	485, 585	—	—	FRET	[76]
NA51	Cys	439	524	70 min	—	—	[16]
	Hcy						
NA52	Biothiols	440	560	20 min	—	ICT	[77]
NA53	GST	389	503	—	—	—	[79]
NA54	GST	420	550	25 min	35 ng/mL	PeT	[80]
NA55	GGT	362	473	20 min	210 μ U/mL	—	[81]
NA56	TrxR	438	538	3 h	—	—	[83]
NA57	Trx	428	540	—	50 nmol/L	—	[84]
NA58	GSH	436	545	3 h	—	—	[85]
NA59	VDP	405	470, 540	60 min	0.14 μ mol/L	FRET	[86]

了探针 **NA37** 用于监测 GSH 和 Hcy, 其中的 MAL 兼作 PeT 荧光猝灭基团和巯基(SH)的活性反应位点. 在添加 GSH 和 Hcy 后, 由于 MAL 的碳碳双键强吸电子特性和高反应性被巯基点击反应, 导致 PeT 过程的抑制在 441 nm 处的蓝色荧光增强, GSH 和 Hcy 的荧光分别在 1 min 内急剧增加 40 倍和在 3 min 内急剧增加 25 倍. 此外, 尽管添加的苯环的共轭体系更进一步提高了双键与 SH 反应活性, 但是在添加 Cys 后没有发现明显的荧光光谱变化. 这可能归因于 Cys 较低的 pK_a (8.53) 使得更容易以离子形式存在, 从而降低了其巯基与双键的反应活性. 另一种相似的探针 **NA38** 被构建^[65]. 该探针表现出良好的 Cys 选择性和生物相容性, 并成功用于活细胞中的 Cys 荧光成像.



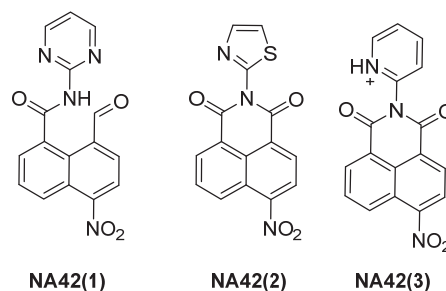
丙烯酸酯已被广泛报道为识别生物硫醇(特别是半胱氨酸)的位点基团, 此外它还具有通过加成环化反应机制的亲电特性. 这些特点为识别探针的设计提供了思路. Wang 课题组^[66]在 2018 年构建了探针 **NA39**, 用于监测活细胞溶酶体中的生物硫醇. 在化合物中使用 4-(2-氨基乙基)吗啉靶向溶酶体和丙烯酸酯基团作为荧光猝灭剂. 在添加生物硫醇后, 丙烯酰基与生物硫醇的巯基发生迈克尔加成反应生成硫醚化合物. 随后, 发生分子内环化反应生成七元环并离去探针, 释放了在 550 nm 处的荧光. 该探针对于 Cys 的检测限为 69 nmol/L, Hcy 的检测限为 90 nmol/L 以及 GSH 的检测限为 100 nmol/L. 类似原理的探针被 Zhu 等^[67]构建, 并用于半胱氨酸成像的比率型荧光探针 **NA40**. 为了实现对细胞的光损伤最小, 近红外(NIR)区域的长波长发射设计的探针有必要被开发. Xu 等^[15]在 2021 年设计了探针 **NA41**, 用于活细胞中半胱氨酸的检测. 该探针使用丙烯酸酯作为掩蔽传感基团, 萘酰亚胺作为荧光基团, 同时利用聚氨基呋喃将发射波长红移至 NIR 区. 对 1H NMR 滴定和 HRMS 分析的结果表明, 巯基进攻丙烯酸酯的碳碳双键部分, 发生迈克尔加成, 随后氨基进攻酯基并发生分子内环化, 离去掩蔽基团丙烯酸酯, 从而产生近红外发射的荧

光(665 nm). 在活细胞和斑马鱼的荧光成像均表明探针 **NA41** 可以有效识别 Cys 而不是其他生物硫醇.



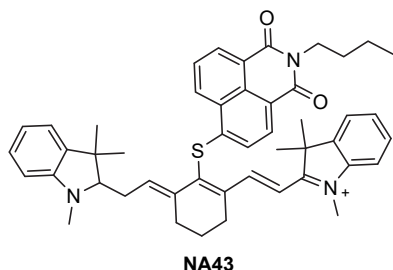
2.2.2 芳族亲核取代

Qian 小组^[68]开发了 3 种类似的多通道比色和荧光探针 **NA42(1)**、**NA42(2)**和 **NA42(3)**用于区分活细胞中 Cys 和 GSH/Hcy 的成像. 这些探针由 3 部分组成, 分别是有良好的亲电与亲水基团 2-氨基-嘧啶 **NA42(1)**、2-氨基-噻唑 **NA42(2)**和 2-氨基-吡啶 **NA42(3)**, 萘酰亚胺荧光团和用作硫醇芳族亲核取代基团的硝基. 这里以 **NA42(3)**为例说明这种传感特性, 在添加 Cys 后, **NA42(3)**的硝基部分被 Cys 的巯基亲核取代为 4-巯基取代物, 随后发生分子内环化生成五元环, 并快速发生 SN 重排过渡到 4-氨基产物, 在 521 nm 处具有最大荧光, 并且在不到 5 min 内荧光增强约 90 倍. 另一方面, 该探针在 350 nm 处的吸光度与浓度(0~70 $\mu\text{mol/L}$)呈线性关系, 而加入 Hcy 后由于中间体 6 元环的产生在动力学上比较慢, 并不产生 521 nm 处的绿色荧光. 对 GSH 而言, 在与硝基发生亲核取代后, 并不存在后续的环化 SN 重排, 这使得只有 498 nm 处的荧光被激活. 此外, 上述这些荧光传感器在水性介质中有良好的溶解度与生物相容性. 这些反应动力学上的差异导致的吸光性能与荧光性能上的差异被成功用在多通道光学探测上区分生物样品中的含巯基蛋白质和硫醇水平.

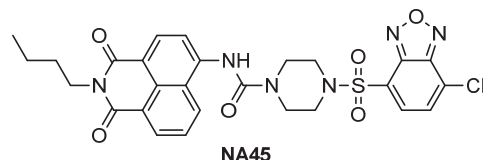
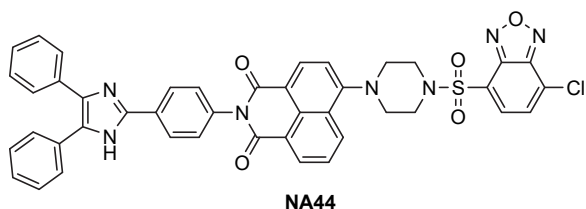


Qian 研究组^[69]设计了 NIR 激活的荧光探针萘酰亚胺-硫醚-花青(**NA43**), 其中萘酰亚胺与花青作为荧光团, 它们之间通过硫醚键相连, 可以通过不同的亲核取

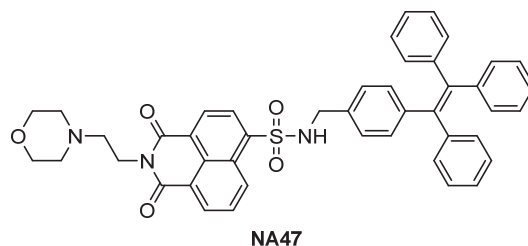
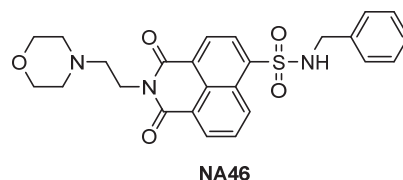
代策略对 Cys、Hcy 和 GSH 进行多色传感. 对于 Cys, 由于其强大的亲核性, 能与硫醚键两侧的荧光团发生亲核取代, 之后发生快速的 SN 重排反应, 分别生成花青-Cys 和萘酰亚胺-Cys, 它们分别在 733 和 435 nm 处发射荧光. 添加 Hcy 后会导致除了 733 nm 处的荧光峰之外, 还有在 475 nm 处出现新的非常弱的荧光峰. 在这种情况下, Hcy 中的巯基只能与花菁侧的硫醚发生亲核取代, 并随后发生 SN 重排, 但是不能亲核取代萘酰亚胺侧处的硫醚, 导致在 475 nm 处出现荧光峰. 另一方面, 添加 GSH 遵循完全不同的机制, GSH 与花菁侧的硫醚发生亲核取代后并不发生 SN 重排, 其次与萘酰亚胺侧不发生亲核取代反应, 这种差异导致了在 815 和 475 nm 处微弱荧光增强. 因此探针 NA43 可以区分 3 种生物硫醇, 这取决于最终产物的荧光特性.



大斯托克斯位移能够减轻生物样品检测环境中的自荧光干扰的影响. 基于三苯基咪唑萘酰亚胺与磺酰苯并噻二唑(SBD)两种荧光团的 FRET 荧光探针 NA44 被开发, 并被用于高选择性检测 Cys^[70]. 在该探针中, 三苯基咪唑萘酰亚胺充当能量供体, 磺酰苯并噻二唑充当能量受体, 它们之间通过咪唑基团桥接作为荧光信号传输基团, 此外有 SBD 荧光团对位的氯原子作为 Cys 的反应位点. 在加入 Cys 后, 由于氯原子初始的快速亲核取代之后发生 SN 重排, 导致从三苯基咪唑萘酰亚胺供体到磺酰苯并噻二唑受体的 FRET 效应的有效能量转移, 并使得在 559 nm 处发射黄色荧光, 并具有低的检测限 (0.87 $\mu\text{mol/L}$). 相比之下, Hcy 和 GSH 不能发生 SN 重排, 导致 FRET 始终处于关闭状态而不能产生黄色荧光. 这种大的斯托克斯位移 (157 nm) 灵敏地检测了活 HeLa 细胞中的 Cys. 另一种类似的探针 NA45 被设计出来^[71], 与上述不同的是用酰胺咪唑基团作为荧光信号传输基团. 该探针被成功地用于灵敏和选择性监测 HeLa 细胞中的 GSH 和 Hcy.

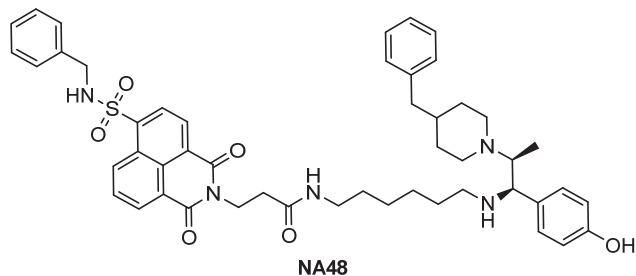


最近报道的磺酰胺也是亲核试剂的良好受体. 为了精确检测和理解某些亚细胞结构中生物硫醇相关的生物化学事件, 需要有高度靶向能力的传感器被设计, 如溶酶体中的 GSH. 2016 年, Yin 研究组^[72]设计了以磺酰胺为硫醇响应探头的探针 NA46 用于检测溶酶体中的 GSH. 该探针将具有溶酶体靶向能力的 2-吗啉代乙基连接到萘酰亚胺的氮原子上, 而传感部分使用磺酰胺苄基. 萘酰亚胺部分的荧光被磺酰胺苄基的基于 PeT 机制所猝灭, 在添加 GSH 亲核取代反应后, 上述的荧光猝灭剂被切割, 导致 450 nm 处的荧光增强在 5 h 内达到最大值, 而对其他生物硫醇作用时, 并没有明显的荧光发射. 这些结果也被时间相关密度泛函理论 (TD-DFT) 计算所证明. 该探针成功可视化了 HepG2 细胞中溶酶体的 GSH 水平. 之后该研究组^[73]在 2019 年报道了相似的磺酰胺作为传感响应的荧光探针 NA47, 并用于跟踪溶酶体中的 GSH. 该探针与上述不同的地方是将四苯基乙烯 (TPE) 结合到磺酰胺作为聚集诱导发射 (AIE) 传感部分. 该探针被特异地响应 GSH, 这可以归因于磺酰胺部分的亲核取代, 但该化合物的溶解度并不理想, 需要在溶液中添加 CTAB 表面活性剂.



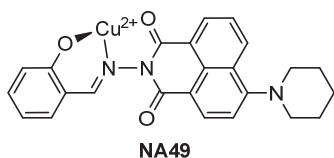
微环境中氧化还原的水平对各种细胞发挥正常功能至关重要, 而 N-甲基-D-天冬氨酸受体 (NMDA) 受体的活性可以反映生物系统的氧化还原能力. 还原物质如 GSH 可以使 NMDA 受体的活性增加. 因此对 NMDA 受体附近的 GSH 浓度监测十分重要. Yoon 研究组^[74]开发了一种可以靶向 NMDA 受体, 并监测 GSH 的双荧光探针 NA48. 该探针以萘酰亚胺为双光子荧光团, 艾芬地尔基团作为 NMDA 受体的靶向基团, 而磺酰胺部分充当 GSH 的选择性传感部分. 结果证实, 该探针在生理条

件下对 GSH 的选择性高于对 Cys 或 Hcy 的选择性. 双光子荧光显微镜成功地监测了在 750 nm 的激发下神经元细胞和海马组织中的 NMDA 受体附近的 GSH 浓度水平.



2.2.3 重金属离子置换策略

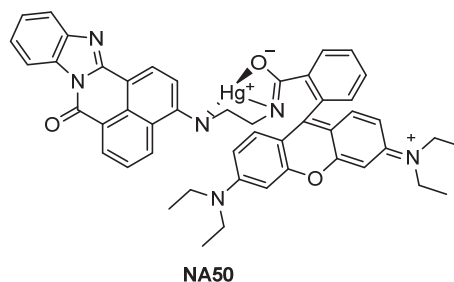
由于各种生物活性硫物质与重金属离子的结合能力较强, 这些生物硫物质可以使用与具有猝灭特性的萘酰亚胺-重金属离子复合物之间的竞争性强弱来检测. 重金属从萘酰亚胺的置换中恢复了基于萘酰亚胺荧光团的荧光发射. 最近报道二价铜离子是一种与生物硫醇具有较大结合力的重金属离子. Shi 等^[75]报道了基于这种传感机制的案例, 探针萘酰亚胺-Cu(II)中以二价铜离子络合到萘酰亚胺上形成 NA49. 在 Cu(II)加入后形成的复合物在有机水介质中的荧光被铜离子的重原子效应猝灭. 而在添加 Cys 后, 由于其与铜离子较大的缔合常数而被置换, 恢复了萘酰亚胺原有的绿色荧光. 在相同条件的 Hcy 与 GSH 中, 也显示相似的绿色荧光强度. 利用激光共聚焦显微镜成功监测了 CHO(中国仓鼠卵巢)细胞的生物硫醇.



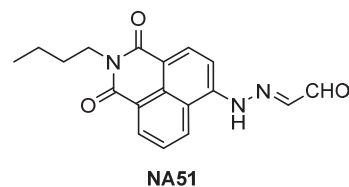
汞离子也是一种与许多生物硫物质有较强的络合能力且可以被置换的离子. Luxami 等^[76]基于 Hg²⁺置换机制, 设计了萘酰亚胺-罗丹明 FRET 化合物作为生物硫醇探针 NA50. 由于 FRET 效应, 该化合物只显示来自萘酰亚胺在 485 nm 处的荧光. 在络合 Hg²⁺后, 由于罗丹明螺环打开导致 FRET 保持“打开”状态, 该化合物显示了罗丹明在 585 nm 处的荧光, 而添加生物硫醇后, Hg²⁺的解络合诱导了 485 nm 的荧光恢复. 此外, 基于这种通过 Hg²⁺调制的络合-解络合半胱氨酸的现象, 对小麦样品中的生物硫醇进行了检测.

2.2.4 其他策略

近来发现 C=N 异构化是化合物中激发态的主要衰变过程, 因此这些化合物通常是非荧光的. 此外, 有研



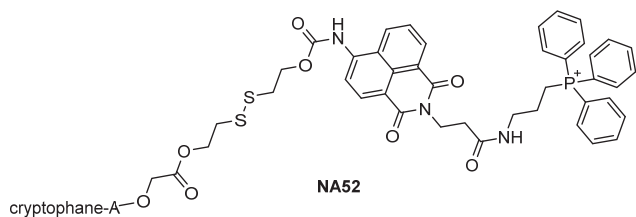
究者发现 C=N 异构化能够被其他基团或者离子通过各种相互作用力影响, 导致该过程被抑制, 从而使得荧光被强烈发射. 根据上述 C=N 异构化的原理, Guo 研究组^[16]设计了基于萘酰亚胺的乙二醛探针 NA51, 并首次用于检测生物硫醇. 该探针在添加 Cys/Hcy 后, 导致 524 nm 处的强烈荧光(52 倍), 这可以归因于 Cys/Hcy 的环化反应生成噻唑烷(NA51-Cys)/噻唑烷(NA51-Hcy), 之后由于 NA51-Cys/NA51-Hcy 上的亚胺 N 原子与分子内的氮氧原子形成氢键, 抑制了 C=N 键异构化, 从而使荧光增强. 此外, 该探针在非质子溶剂[二甲基亚砜(DMSO)、四氢呋喃(THF)等]中表现出微弱的荧光, 而在质子溶剂中表现出强的荧光, 这也证明了由分子间氢键相互作用抑制, 导致 C=N 异构化而发生猝灭. 这种设计策略的探针成功获取了嗜热四膜虫细胞半胱氨酸的荧光图像.



二硫键通常可以氧化还原的环境中被裂解, 而生物硫醇作为细胞中最重要氧化还原物质, 可以充当二硫键裂解试剂. 近来报道的设计思路通常是将荧光团与二硫键连接作为探针, 在与生物硫醇作用时可以裂解二硫键, 释放荧光团. 例如, Zhou 课题组^[77]开发了生物硫醇探针 NA52, 由通过含二硫键接头和接有可靶向线粒体的三苯基磷单元的萘酰亚胺组成, 此外还添加了 cryptophane-A 笼作为 ¹²⁹Xe NMR 的报告分子. 生物硫醇加入后 560 nm 处的荧光被激发, 这是源自二硫键被裂解, 导致随后发生分子内环化, 荧光团 4-氨基-1,8-萘酰亚胺释放. 该探针被成功用于线粒体中的硫醇检测.

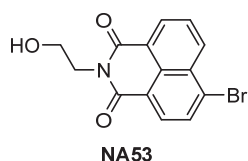
2.3 与生物硫醇相关的酶与蛋白质检测探针

常见的与生物硫醇相关的酶与蛋白检测探针有谷胱甘肽 S-转移酶(GST)、γ-谷氨酰转肽酶(GGT)、硫氧还蛋白还原酶(TrxR)、硫氧还蛋白(Trx)和邻二硫醇蛋白(VDP)等. 近年来, 研究人员针对与生物硫醇相关的酶



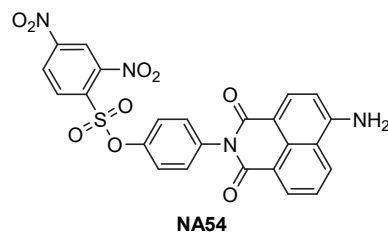
与蛋白的检测构建了许多基于 NA 的光学探针, 它们的检测特性如表 4 所示.

作为 II 期解毒酶, 谷胱甘肽 S-转移酶(GST)能催化还原形式的 GSH, 并与多种内源性和外源性物质结合, 在细胞解毒和抗氧化防御中起重要作用^[78]. 因此有必要设计探针选择性地检测 GST. Inoue 等^[79]报道了探针 NA53 用于成像 GSTP1 (Pi 类 GST). 在 NA53 和 GSH 均存在的情况下, 可以在水溶液中发射最大波长为 503 nm 的荧光, 这归因于 GST 催化了谷胱甘肽的芳族取代溴基团而导致显著的荧光增强. 这种取代具有高度选择性, 并且仅在 GSH 与 GSTP1 都存在的情况下发生. 即使在高浓度 GSH (20 mmol/L) 或各种细胞内氧化还原存在下, 也很少产生非酶反应活跃的物种. 这证明了 NA53 可以可视化活细胞中的 GSTP1 活性, 并能够区分癌细胞和正常细胞.

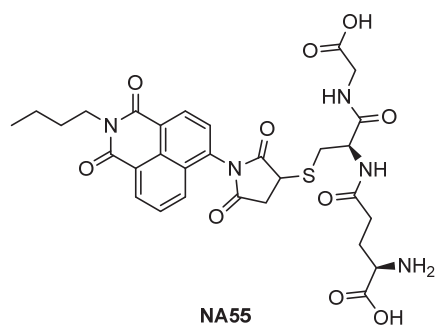


由于单光子激发的探针通常被认为会对生物样品造成光损伤和由短激发波长引起的自发荧光干扰. 为了解决这一问题, Feng 研究组^[80]设计了一种 2,4-二硝基苯磺酰胺基取代的萘酰亚胺化合物 NA54 作为 GST 的双光子荧光探针, 使用 2,4-二硝基苯磺酰胺基团作为离去基团, 它兼有 PeT 猝灭剂和 GST 识别单元的功能. 研究者利用伏安测量法评估了探针吉布斯自由能 ΔG_{PeT} , 计算结果为 -1.51 eV, 这验证了该探针具有 PeT 机制响应. 该探针在加入 GST 和 GSH 后荧光增强约 40 倍, 响应速度快, 即使是低浓度 (0.6 $\mu\text{g/mL}$) 的 GST, 平衡时间也仅需 25 min, 并且具有 35 ng/mL 的检测限. 该探针识别 GST 的机制被认为是在 GST 和 GSH 的作用下, GST 催化 GSH 的巯基攻击 2,4-二硝基苯磺酰胺基的亲电中心, 去除该识别单元, 释放出萘酰亚胺双光子荧光团. 另外, 利用双光子成像技术记录了深度达到 48~114 μm 的药物性肝损伤肝脏样品的 GST 荧光图像.

γ -谷氨酰转肽酶(GGT)是一种细胞膜结合酶, 可选择性催化谷胱甘肽的 γ -谷氨酰键断裂. 因此, 非常需要用于快速和选择性检测 GGT 活性的荧光探针. Wang 小

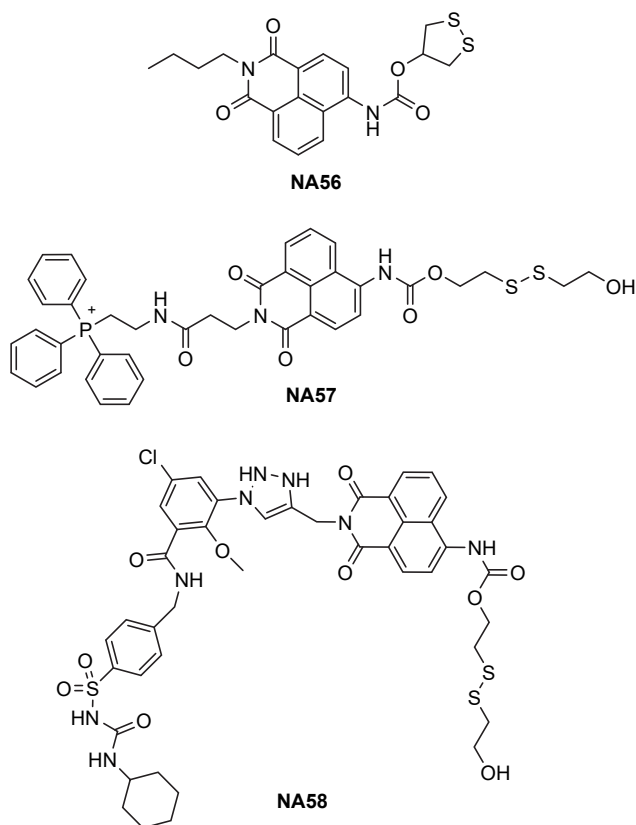


组^[81]开发了探针 NA55, 它结合了快速分子内转环级联反应, 用于在酶促裂解 γ -谷氨酰基后快速检测 GGT 活性. 这种设计策略允许引入体积大的 1,8-萘酰亚胺荧光团, 提高酶动力学并降低检测限. 转环产物产生超过 200 倍的荧光增量. 探针 NA55 显示出良好的选择性和对 GGT 活性的快速检测, 检测限低至 0.21 mU/mL. 此外, 荧光产物不含游离胺基, 检测更稳定. 最重要的是, 细胞成像研究表明, 转环产物富含溶酶体, 用于选择性点亮 GGT 过表达的卵巢癌细胞(OVCAR5)而不是正常细胞(HUVEC), 表明 NA55 作为癌症诊断和治疗的显像剂的潜力.



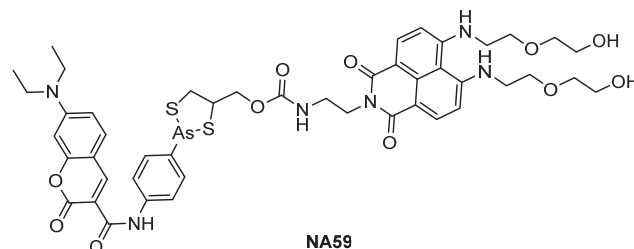
硫氧还蛋白还原酶(TrxR)在维持细胞内氧化还原和调节多种细胞氧化还原信号事件方面发挥着重要的生物学作用^[82]. 第一个例子由 Fang 课题组^[83]报道了可以响应硫氧还蛋白还原酶(TrxR)的探针 NA56. 在不存在 TrxR 的情况下, 萘酰亚胺的激发被五元环状二硫键部分猝灭荧光. 在添加 TrxR 后导致二硫键裂解, 新生的硫醇盐对酰胺羰基中碳原子进行分子内攻击, 之后五元环状氨基甲酸酯发生分子内环化并离去, 随后产生源自萘酰亚胺单元的绿色荧光信号. 在 HepG2 细胞实验中进一步证明该探针能够可视化活细胞中 TrxR 活性的成像. 基于相同原理的二硫键裂解, 同样可以应用于硫氧还蛋白(Trx)检测. 2012 年, Kim 等^[84]开发了可视化细胞中的线粒体硫氧还蛋白活性的探针 NA57. 探针的萘酰亚胺荧光团部分被二硫键部分由 ICT 效应诱导发射波长蓝移, 在加入 Trx 后, 由二硫键的裂解导致 ICT 效应的增强, 荧光红移至 540 nm, 而对其他生物硫醇几乎没有荧光. 尽管这些生物硫醇的浓度高于 Trx, 但是进一步的荧光滴定实验表明, 二硫键裂解的二级反应速率远大于其他生物硫醇. 这些数据表明探针对 Trx 的选择性

远高于其他相似的生物硫醇。此外为了放大线粒体中的定位, 添加了三苯基磷基团。上述这些设计实现了活细胞中检测 Trx, 并具有低检测限 50 nmol/L, 远低于 Trx 的 5~10 $\mu\text{mol/L}$ 的生理水平。很少有探针针对 GSH 检测的选择性高于 Trx。2018 年, 该研究组^[85]报道了基于二硫化物裂解的探针 **NA58** 被用于内质网(ER)应激条件下的 GSH 监测结果优于 Trx 的第一个例子。该探针由三部分构成, 充当荧光团的萘酰亚胺, 萘酰亚胺的 4 号 C 位的格列本脲充当 ER 靶向单元和亲水单元, 以及作为传感部分的二硫键单元。在与 GSH 相互作用时, 探针中的二硫键作为响应裂解, 并发生重排导致猝灭基团离去, 这释放了 545 nm 处的荧光。更为重要的是, 该探针并不会受到 Trx 的明显干扰, 因为格列本脲部分的亲水特性, 缺乏与 Trx 疏水表面的疏水作用。共聚焦显微镜研究表明, 该探针被成功用于显示 ER 应激下 GSH 的水平较低。



邻二硫醇蛋白(VDP)在细胞内氧化还原稳态中发挥着重要作用。为了提供有关活细胞中 VDP 的全局分布和动态变化的定量信息, Qian 等^[86]设计并合成了一种基于 FRET 机制比例荧光探针 **NA59**, 用于捕获活细胞中的 VDP。NA59 在单次激发(405 nm)时表现出比率荧光信号, 这使得荧光信号的自校准和内源性 VDP 的定量成为可能。并且证明了其在不同细胞氧化还原条件下原位动态追踪 VDP 变化的潜力。NA59 通过比率荧光成像和共定位测定直接观察到内源性 VDP 的亚细胞分布, 结

果表明线粒体中存在丰富的 VDP。此外, 细胞表面还存在一些对氧化还原敏感的 VDP, 它们可以对氧化还原刺激做出反应。该探针成功用于捕获和量化活细胞中的 VDP, 以及对 VDP 的可见动态追踪。



3 总结与展望

本综述讨论了具有广泛结构修饰的萘酰亚胺基光学传感器用于监测生物微环境理化性质和生物活性硫物质。尽管萘酰亚胺衍生物光学探针已取得较大发展, 但是仍存在进一步的发展空间需要解决以下几个问题: (1)大多数报道的萘酰亚胺衍生物探针在紫外可见区发射, 还很少有红光区或者近红外光区的探针被报道。其中一种可行的方法是需要更大的斯托克斯位移, 而其他方法还很少报道。因此近红外(NIR)发射, 特别是近红外二区(NIR-II)的萘酰亚胺衍生物探针的设计方法有待于进一步设计。(2)各种萘酰亚胺衍生物检测理化性质的设计还处于开发阶段。例如, 尽管报道的萘酰亚胺基探针能够监测的微环境 pH, 但是大多数均为在 pH 较宽范围感知酸碱转换, 很少能从微小宽度(通常小于 2 个 pH 单位)感知。未来可以设计更多丰富的萘酰亚胺衍生物探针用来感知微小参数的变化。(3)目前大多数构建的萘酰亚胺衍生物探针仅作为监测肿瘤细胞或者正常细胞微环境或者活性硫物质, 尽管萘酰亚胺衍生物的生物功能包括抗癌药物和抗菌剂, 但是并未实现把萘酰亚胺衍生物探针作为治疗药物实现肿瘤诊断治疗一体化, 以后可以发挥萘酰亚胺衍生物多方面的功能实现从检测到治疗的应用。此外, 为进一步提高探针水溶性和生物相容性, 理解毒性和排泄药代动力学, 设计萘酰亚胺衍生物是未来发展的热点和难点之一。

References

- [1] Zhou, K.; Ren, M. G.; Deng, B. B.; Lin, W. L. *New J. Chem.* **2017**, 41, 11507.
- [2] Li, X. L.; Zhao, R. R.; Wang, Y.; Huang, C. S. *J. Mater. Chem. B* **2018**, 6, 6592.
- [3] Li, H. D.; Kim, H. J.; Xu, F.; Han, J. J.; Yao, Q. C.; Wang, J. Y.; Pu, K. Y.; Peng, X. J.; Yoon, J. Y. *Chem. Soc. Rev.* **2022**, 51, 1795.
- [4] Li, M.; Fan, J. L.; Li, H. D.; Du, J. J.; Long, S. R.; Peng, X. J. *Bio-materials* **2018**, 164, 98.
- [5] Liu, T.; Sun, L.; Zhang, Y. B.; Wang, Y. L.; Zheng, J. J. *Biochem. Mol. Toxicol.* **2022**, 36, e22942.

- [6] Lau, N.; Pluth, M. D. *Curr. Opin. Chem. Biol.* **2019**, *49*, 1.
- [7] Chen, W. J.; Ma, X. M.; Chen, H. J.; Liu, S. H.; Yin, J. *Coord. Chem. Rev.* **2021**, *427*, 213584.
- [8] He, X. Y.; Li, H.; Liu, S. S.; Li, Y.; Lin, X. D.; Zheng, H. Y.; Zhou, Z. L.; Zeng, D. D. *ChemistrySelect* **2022**, *7*, e202103821.
- [9] Ulla, H.; Kiran, M. R.; Garudachari, B.; Ahip, T. N.; Tarafder, K.; Adhikari, A. V.; Umesh, G.; Satyanarayan, M. N. *J. Mol. Struct.* **2017**, *1143*, 344.
- [10] Shao, J. J.; Chang, J. J.; Chi, C. Y. *Chem.-Asian J.* **2014**, *9*, 253.
- [11] Li, L.; Zhang, Z. Q. *Spectrochim. Acta, Part A* **2022**, *264*, 120243.
- [12] Gao, C.; Liu, X. J.; Chen, W.; Wang, F. L.; Jiang, J. H. *Methods Appl. Fluoresc.* **2018**, *7*, 014002.
- [13] Jothi, D.; Munusamy, S.; Iyer, S. K. *J. Photochem. Photobiol., A* **2021**, *420*, 113491.
- [14] Shi, X. R.; Yin, C. X.; Wen, Y.; Huo, F. J. *Dyes Pigm.* **2019**, *165*, 38.
- [15] Hou, X. F.; Li, Z. S.; Li, Y. Q.; Zhou, Q. H.; Liu, C. H.; Fan, D.; Wang, J. J.; Xu, R. J.; Xu, Z. H. *Spectrochim. Acta, Part A* **2021**, *246*, 119030.
- [16] Wang, P.; Liu, J.; Lv, X.; Liu, Y. L.; Zhao, Y.; Guo, W. *Org. Lett.* **2012**, *14*, 520.
- [17] Hu, L.; Ju, M.; Gao, A. Q.; Chen, H. H.; Hou, A. Q. *Dyes Pigm.* **2022**, *200*, 110164.
- [18] Gopala, L.; Cha, Y. J.; Lee, M. H. *Dyes Pigm.* **2022**, *201*, 110195.
- [19] Qiu, K. Q.; Seino, R.; Han, G. Q.; Ishiyama, M.; Ueno, Y.; Tian, Z. Q.; Sun, Y. J.; Diao, J. J. *Adv. Healthcare Mater.* **2022**, e2102185.
- [20] Tian, Y. Q.; Su, F. Y.; Weber, W.; Nandakumar, V.; Shumway, B. R.; Jin, Y. G.; Zhou, X. F.; Holl, M. R.; Johnson, R. H.; Meldrum, D. R. *Biomaterials* **2010**, *31*, 7411.
- [21] Lee, M. H.; Park, N.; Yi, C.; Han, J. H.; Hong, J. H.; Kim, K. P.; Kang, D. H.; Sessler, J. L.; Kang, C.; Kim, J. S. *J. Am. Chem. Soc.* **2014**, *136*, 14136.
- [22] Lee, M. H.; Kim, J. Y.; Han, J. H.; Bhuniya, S.; Sessler, J. L.; Kang, C.; Kim, J. S. *J. Am. Chem. Soc.* **2012**, *134*, 12668.
- [23] Zhou, X. F.; Su, F. Y.; Lu, H. G.; Willis, P. S.; Tian, Y. Q.; Johnson, R. H.; Meldrum, D. R. *Biomaterials* **2012**, *33*, 171.
- [24] Hu, F.; Huang, Y. X.; Xiao, Y. S.; Li, Y. C.; Luo, X.; Qian, X. H.; Yang, Y. J. *Anal. Methods* **2021**, *13*, 3012.
- [25] Liu, Q.; Liu, Y. Q.; Zhang, H.; Wen, Z. R. *Spectrochim. Acta, Part A* **2006**, *65*, 164.
- [26] Loukova, G. V.; Vasiliev, V. P.; Milov, A. A.; Smirnov, V. A.; Min-kin, V. I. *J. Photochem. Photobiol., A* **2016**, *327*, 6.
- [27] Gonzalez, F. F.; Gutierrez, M. F.; Puentes, D. G.; Orte, A.; Gonzalez-Vera, J. A.; Herranz, R. *Eur. J. Med. Chem.* **2020**, *200*, 112407.
- [28] Xiao, H. B.; Chen, M. J.; Shi, G. H.; Wang, L.; Yin, H. Y.; Mei, C. *Res. Chem. Intermed.* **2010**, *36*, 1021.
- [29] Qian, M.; Zhang, L. W.; Pu, Z. J.; Zhang, C.; Chen, Q. X.; Sui, X. H.; Han, X.; Zeng, S.; Cui, H. Y.; Wang, J. Y.; Peng, X. J. *Sens. Actuators, B* **2021**, *344*, 130261.
- [30] Gai, F. Q.; Zuo, Y. J.; Lin, W. Y. *Talanta* **2021**, *225*, 122059.
- [31] Zhang, Z. H.; Li, C. C.; Cui, W. L.; Qu, J.; Zhang, H. T.; Liu, K. Y.; Zhu, X. Z.; Wang, J. Y. *Eur. Polym. J.* **2022**, *166*, 111030.
- [32] Stamentovic, V.; Collado, D.; Inestrosa, E. P. *Spectrochim. Acta, Part A* **2022**, *267*, 120546.
- [33] Dai, Y.; Lv, B. K.; Zhang, X. F.; Xiao, Y. *Chin. Chem. Lett.* **2014**, *25*, 1001.
- [34] Lan, H. C.; Li, Q.; Li, Y.; Xiao, S. Z.; Li, Y. Q.; Yan, X. J.; Yuan, S.; Zhu, P. C. *Dyes Pigm.* **2018**, *155*, 121.
- [35] Zhang, P. Y.; Chen, H. J.; Huang, H. Y.; Qiu, K. Q.; Zhang, C. X.; Chao, H.; Zhang, Q. L. *Dalton Trans.* **2019**, *48*, 3990.
- [36] Hou, L. L.; Ning, P.; Feng, Y.; Ding, Y. Q.; Bai, L.; Li, L.; Yu, H. Z.; Meng, X. M. *Anal. Chem.* **2018**, *90*, 7122.
- [37] Wang, L.; Wang, G.; Shang, C. D.; Kang, R.; Fang, Y. *ACS Appl. Mater. Interfaces* **2017**, *9*, 35419.
- [38] Kim, S. J.; Park, S. Y.; Yoon, S. A.; Kim, C.; Kang, C.; Lee, M. H. *Anal. Chem.* **2021**, *93*, 4391.
- [39] Wei, Y. F.; Zhang, X. Q.; Sun, R.; Xu, Y. J.; Ge, J. F. *Dyes Pigm.* **2021**, *194*, 109559.
- [40] Xia, T. K.; Wang, L. L.; Qu, Y. C.; Rui, Y. C.; Cao, J.; Hu, Y.; Yang, J.; Wu, J. W.; Xu, J. L. *J. Mater. Chem. C* **2016**, *4*, 5696.
- [41] Georgiev, N. I.; Marinova, N. V.; Bojinov, V. B. *J. Photochem. Photobiol., A* **2020**, *401*, 112733.
- [42] Zhu, L. Q.; Fu, M. L.; Yin, B.; Wang, L.; Chen, Y. J.; Zhu, Q. *Dyes Pigm.* **2020**, *172*, 107859.
- [43] Wu, N.; Sun, Y. S.; Kong, M. Y.; Lin, X.; Cao, C.; Li, Z. X.; Feng, W.; Li, F. Y. *Small* **2022**, e2107963.
- [44] Qiao, J.; Mu, X. Y.; Qi, L. *Biosens. Bioelectron.* **2016**, *85*, 403.
- [45] Wen, Y.; Zhang, W. J.; Liu, T.; Huo, F. J.; Yin, C. X. *Anal. Chem.* **2017**, *89*, 11869.
- [46] Zhang, W. J.; Huo, F. J.; Yue, Y. K.; Zhang, Y. B.; Chao, J. B.; Cheng, F. Q.; Yin, C. X. *J. Am. Chem. Soc.* **2020**, *142*, 3262.
- [47] Qiao, J.; Wu, D. Y.; Song, Y. Y.; Ji, W. L.; Yue, Q. W.; Mao, L. Q.; Qi, L. *Anal. Chem.* **2021**, *93*, 14743.
- [48] Christopherson, C. J.; Mayder, D. M.; Poisson, J.; Paisley, N. R.; Tonge, C. M.; Hudson, Z. M. *ACS Appl. Mater. Interfaces* **2020**, *12*, 20000.
- [49] Rani, K.; Sengupta, S. *Chem. Sci.* **2021**, *12*, 15533.
- [50] Zhu, Y. Q.; Romero, E. L.; Ren, X. D.; Sanca, A. J.; Du, C. K.; Liu, C.; Karim, Z. A.; Alshbool, F. Z.; Khasawneh, F. T.; Zhou, J.; Zhong, D. F.; Geng, B. *Nat. Commun.* **2018**, *9*, 3952.
- [51] Lv, B.; Chen, S.; Tang, C. S.; Jin, H. F.; Du, J. B.; Huang, Y. Q. *J. Adv. Res.* **2021**, *27*, 85.
- [52] Park, C. S.; Ha, T. H.; Choi, S. A.; Nguyen, D. N.; Noh, S.; Kwon, O. S.; Lee, C. S.; Yoon, H. *Biosens. Bioelectron.* **2017**, *89*, 919.
- [53] Chen, W.; Pacheco, A.; Takano, Y.; Day, J. J.; Hanaoka, K.; Xian, M. *Angew. Chem., Int. Ed.* **2016**, *55*, 9993.
- [54] Zhang, Y. Q.; Zhang, L. *Microchem. J.* **2020**, *159*, 105394.
- [55] Shi, D. T.; Zhou, D.; Zang, Y.; Li, J.; Chen, G. R.; James, T. D.; He, X. P.; Tian, H. *Chem. Commun.* **2015**, *51*, 3653.
- [56] Velusamy, N.; Thirumalaivasan, N.; Bobba, K. N.; Podder, A.; Wu, S. P.; Bhuniya, S. *J. Photochem. Photobiol., B* **2019**, *191*, 99.
- [57] Tian, M. J.; Xu, J. H.; Ma, Q. J.; Li, L. K.; Yuan, H. M.; Sun, J. G.; Zhu, N. N.; Liu, S. Z. *Spectrochim. Acta, Part A* **2022**, *268*, 120708.
- [58] Han, Q. X.; Ru, J. X.; Wang, X. C.; Dong, Z.; Wang, L.; Jiang, H.; Liu, W. S. *ACS Appl. Bio Mater.* **2019**, *2*, 1987.
- [59] Singh, N.; Sharma, S.; Singh, R.; Rajput, S.; Chattopadhyay, N.; Tewari, D.; Joshi, K. B.; Verma, S. *Chem. Sci.* **2021**, *12*, 16085.
- [60] Gao, B. Z.; Cui, L. X.; Pan, Y.; Xue, M. J.; Zhu, B. Y.; Zhang, G. M.; Zhang, C. H.; Shuang, S. M.; Dong, C. *Spectrochim. Acta, Part A* **2017**, *173*, 457.
- [61] Liu, W. J.; Chen, J.; Xu, Z. C. *Coord. Chem. Rev.* **2021**, *429*, 213638.
- [62] Li, Y.; Liu, W. M.; Zhang, P. P.; Zhang, H. Y.; Wu, J. S.; Ge, J. C.; Wang, P. F. *Biosens. Bioelectron.* **2017**, *90*, 117.
- [63] Yin, C. X.; Xiong, K. M.; Huo, F. J.; Salamanca, J. C.; Strongin, R. M. *Angew. Chem., Int. Ed.* **2017**, *56*, 13188.
- [64] Li, X. M.; Zheng, Y. J.; Tong, H. J.; Qian, R.; Zhou, L.; Liu, G. X.; Tang, Y.; Li, H.; Lou, K. Y.; Wang, W. *Chem.-Eur. J.* **2016**, *22*, 9247.
- [65] Qian, J.; Zhang, G.; Cui, J.; Zhou, L.; Chen, Z.; Zhang, Z.; Zhang, W. *Sens. Actuators, B* **2020**, *311*, 127923.
- [66] Liang, B. B.; Wang, B. Y.; Ma, Q. J.; Xie, C. X.; Li, X.; Wang, S. P. *Spectrochim. Acta, Part A* **2018**, *192*, 67.
- [67] Zhu, B. C.; Guo, B. P.; Zhao, Y. Z.; Zhang, B.; Du, B. *Biosens. Bioelectron.* **2014**, *55*, 72.
- [68] Song, L.; Jia, T.; Lu, W. J.; Jia, N. Q.; Zhang, W. B.; Qian, J. H. *Org. Biomol. Chem.* **2014**, *12*, 8422.
- [69] Shen, R. H.; Bai, J.; Qian, Y. J. *Mater. Chem. B* **2021**, *9*, 2462.
- [70] Wang, Y. P.; Chen, J.; Shu, Y.; Wang, J. H.; Qiu, H. D. *Spectrochim. Acta, Part A* **2022**, *266*, 120409.
- [71] Huang, J.; Chen, Y. N.; Qi, J. G.; Zhou, X. M.; Niu, L. Q.; Yan, Z. J.; Wang, J. H.; Zhao, G. X. *Spectrochim. Acta, Part A* **2018**, *201*, 105.
- [72] Cao, M. J.; Chen, H. Y.; Chen, D.; Xu, Z. Q.; Liu, S. H.; Chen, X. Q.; Yin, J. *Chem. Commun.* **2016**, *52*, 721.

- [73] Han, X.; Liu, Y. H.; Liu, G. T.; Luo, J. T.; Liu, S. H.; Zhao, W. B.; Yin, J. *Chem.-Asian J.* **2019**, *14*, 890.
- [74] Kwon, N.; Lim, C. S.; Ko, G.; Ha, J.; Lee, D.; Yin, J.; Kim, H. M.; Yoon, J. *Anal. Chem.* **2021**, *93*, 11612.
- [75] Shi, Y. G.; Yao, J. H.; Duan, Y. L.; Mi, Q. L.; Chen, J. H.; Xu, Q. Q.; Gou, G. Z.; Zhou, Y.; Zhang, J. F. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2013**, *23*, 2538.
- [76] Luxami, V.; Verma, M.; Rani, R.; Paul, K.; Kumar, S. *Org. Biomol. Chem.* **2012**, *10*, 8076.
- [77] Zeng, Q. B.; Guo, Q. N.; Yuan, Y. P.; Yang, Y. Q.; Zhang, B.; Ren, L. L.; Zhang, X. X.; Luo, Q.; Liu, M. L.; Bouchard, L. S.; Zhou, X. *Anal. Chem.* **2017**, *89*, 2288.
- [78] Song, A. G.; Feng, T.; Shen, X.; Gai, S. C.; Zhai, Y. M.; Chen, H. *Chem. Commun.* **2019**, *55*, 7219.
- [79] Fujikawa, Y.; Terakado, K.; Nampo, T.; Mori, M.; Inoue, H. *Talanta* **2019**, *204*, 633.
- [80] Zhang, J.; Jin, Z.; Hu, X. X.; Meng, H. M.; Li, J.; Zhang, X. B.; Liu, H. W.; Deng, T. G.; Yao, S.; Feng, L. L. *Anal. Chem.* **2017**, *89*, 8097.
- [81] Tong, H. J.; Zheng, Y. J.; Zhou, L.; Li, X. M.; Qian, R.; Wang, R.; Zhao, J. H.; Lou, K. Y.; Wang, W. *Anal. Chem.* **2016**, *88*, 10816.
- [82] Lu, J.; Holmgren, A. *Free Radical Biol. Med.* **2014**, *66*, 75.
- [83] Zhang, L. W.; Duan, D. Z.; Liu, Y. P.; Ge, C. P.; Cui, X. M.; Sun, J. Y.; Fang, J. G. *J. Am. Chem. Soc.* **2014**, *136*, 226.
- [84] Lee, M. H.; Han, J. H.; Lee, J. H.; Choi, H. G.; Kang, C.; Kim, J. S. *J. Am. Chem. Soc.* **2012**, *134*, 17314.
- [85] Wi, Y. J.; Le, H. T.; Verwilt, P.; Sunwoo, K.; Kim, S. J.; Song, J. E.; Yoon, H. Y.; Han, G.; Kim, J. S.; Kang, C.; Kim, T. W. *Chem. Commun.* **2018**, *54*, 8897.
- [86] Huang, C. S.; Jia, T.; Tang, M. F.; Yin, Q.; Zhu, W. P.; Zhang, C.; Yang, Y.; Jia, N. Q.; Xu, Y. F.; Qian, X. H. *J. Am. Chem. Soc.* **2014**, *136*, 14237.

(Cheng, F.)